ISSN 0022-4847

台灣農業研究

第六十一卷　　第三期

研究報告

寄主與齡期對薹潛蠅繭蜂（*Opius caricivorae*）（膜翅目：小繭蜂科）發育與產卵之影響
錢景泰、張淑貞 165

寄主與溫度對薹潛蠅繭蜂（*Opius caricivorae*）（膜翅目：小繭蜂科）族群增長與寄生能力之影響
錢景泰、張淑貞 172

超甜玉米品種間遺傳距離與產量之相關性
劉紹國、謝光照 186

台灣黃蘗細胞懸浮培養生產小蘗鹼之研究
劉季函、賴瑞聲、李宏謨、吳明哲 196

台灣感染萵苣之 ***Bidens mottle virus***：病毒鑑定及全長度基因體解序分析
陳金枝、鄧汀欽、黃春惠、林碧雲、廖吉彥 209

抽穗至收穫期間氣象變因對水稻米質（TNG 71）之影響
何佳勳、楊純明、蕭巧玲、賴明信 222

叢枝菌根菌與其他微生物在香蕉黃葉病防治之應用
林素禎、王朝儀、蘇慶昌 241

研究簡報

生物可分解材料作為蝴蝶蘭栽培介質之可行性評估
戴廷恩、張耿衡、謝廷芳 250

中華民國一〇一年九月

行政院農業委員會農業試驗所出版

中華民國　台灣　台中市

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 61(3):165–171 (2012)

寄主與齡期對薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae*) (膜翅目：小繭蜂科) 發育與產卵之影響[1]

錢景秦[2,3] 張淑貞[2]

摘　要

錢景秦、張淑貞。2012。寄主與齡期對薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae*) (膜翅目：小繭蜂科) 發育與產卵之影響。台灣農業研究 61:165–171。

薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae* Fischer) 為南美斑潛蠅 [*Liriomyza huidobrensis* (Blanchard)]、蔬菜斑潛蠅 (*Liriomyza sativae* Blanchard) 及非洲菊斑潛蠅 [*Liriomyza trifolii* (Burgess)] 之幼蟲至蛹內寄生蜂。為建立寄生蜂繁殖方法及對寄主防治潛能之評估，本試驗於室內 25℃ 下進行上述三種寄主與齡期對薹潛蠅繭蜂發育、子蜂數及子代雌性比之影響。結果得知寄主種類對該蜂之發育期與存活率均無顯著影響。在寄主齡期無選擇性或有選擇性試驗時，雌蜂雖均可在寄主三種不同齡期上產卵，但均顯著偏好產卵於寄主第二與三齡幼蟲，且此二處理間無顯著差異。成蜂體型大小雖不受寄主齡期影響，但子蜂數與子代雌性比卻受寄主齡期影響。寄生第一齡寄主者其子蜂數顯著較寄生第二、三齡寄主者減少 24.4–32.8%，子代雌性比顯著較寄生第二、三齡寄主者減少 19.6–35.2%。顯示薹潛蠅繭蜂較適宜在斑潛蠅第二與三齡幼蟲上繁殖。

關鍵詞：薹潛蠅繭蜂、南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅、非洲菊斑潛蠅、齡期偏好。

前　言

薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae* Fischer) 屬膜翅目 (Hymenoptera)、小繭蜂科 (Braconidae)、蠅繭蜂屬 (*Opius*)，於 1964 年被定名 (Yu *et al.* 2009)。中文異名為黃腹蠅繭蜂 (Yin *et al.* 2003; Wan *et al.* 2005; Xu *et al.* 2007a, 2007b)，英文異名為 *Opius labradorensis* Fischer (Yu *et al.* 2009)。

該蜂分布於西舊北區、歐洲、東舊北區及東方等地 (Yu *et al.* 2009)。該蜂為多食性，寄主範圍包括雙翅目潛蠅 15 種 (Lin & Wang 1992; Chien & Ku 1998; Chen *et al.* 2003; Yu *et al.* 2009; Chien & Chang 2012a)。薹潛蠅繭蜂在中國浙江省杭州地區為蔬菜斑潛蠅 (*Liriomyza sativae* Blanchard) 重要的寄生蜂 (Chen *et al.* 2003)，在台灣該蜂亦寄生蔬菜斑潛蠅、南美斑潛蠅 [*Liriomyza huidobrensis* (Blanchard)] (Chien & Chang unpublished data) 及非洲菊斑

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2639 號。接受日期：101 年 1 月 11 日。
2. 本所應用動物組前研究員及助理研究員。台灣 台中市。
3. 通訊作者，電子郵件：chien@tari.gov.tw；傳真機：(04)23317600。

潛蠅 [*Liriomyza trifolii* (Burgess)] (Lin & Wang 1992; Chien & Ku 1998)。

Chien & Chang (2012a) 已報導該蜂形態與部分生活史，為進一步瞭解臺潛蠅釉蜂對台灣三種斑潛蠅之抑制能力，本研究以南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅為寄主，觀察寄主與齡期對臺潛蠅釉蜂發育與繁殖之影響，藉以提供該蜂繁殖方法與生物防治時評估寄生蜂對寄主防治潛能之參考。

材料與方法

供試蟲源

在雲林縣林內鄉菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 及在彰化縣永靖鄉非洲菊 (*Gerbera jamesonii* Bolues ex Hook. f.) 上，分別採集被南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅幼蟲危害之葉片，並攜回室內。攤開葉片置放在塑膠盤內，待斑潛蠅老熟幼蟲鑽出化蛹後，收集蠅蛹於玻璃皿內。待成蠅與臺潛蠅釉蜂羽化，供做飼育之蟲源。

供試寄主植物、寄主害蟲及寄生蜂之繁殖

本試驗所用之寄主植物菜豆苗 (*P. vulgaris* var. *communis* Aeschers) 之栽培，及供試寄主南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅之繁殖，係參照 Chien & Ku (1996) 之方法。臺潛蠅釉蜂之繁殖，則參照 Chien & Ku (2001) 之方法，以帶有寄主第三齡幼蟲潛食之罐插菜豆苗，繁殖臺潛蠅釉蜂。

三種寄主對臺潛蠅釉蜂發育之影響

在 25℃下，參照 Chien & Ku (2001) 之方法，將各內有 120 隻第三齡上述三種供試寄主幼蟲 (產卵後第六日) 潛食之罐插菜豆苗 (每葉 30 隻)，放入直徑 20 cm、高 25 cm 之壓克力筒，各供 30 隻臺潛蠅釉蜂雌蜂產卵 2 小時 (上午 8 點至 10 點間)，然後將罐插菜豆苗移出。繼之，在溫度 25℃、相對濕度 65–85% 及光週期 14L：10D (上午 5 點至下午 7 點間照光) 下，依 Chien & Chang (2012a) 之方法，每日觀察臺潛蠅釉蜂各蟲期在三種不同斑潛蠅第三齡幼蟲上之存活率與發育日數。其中存活率試驗，27–32 粒卵為一組，計 4 重複；發育期試驗各觀察 17–42 隻不等。

寄主齡期對臺潛蠅釉蜂產卵偏好性之影響

參照 Chien & Ku (2001) 之方法，試驗分無選擇性試驗 (no-choice test) 與選擇性試驗 (free-choice test) 二種方式進行。寄主有南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅三種。無選擇性試驗時，先準備各帶有 20 隻第一、二、或三齡寄主幼蟲之 1 片罐插菜豆葉片，將其各置入直徑 12 cm、高 22 cm 之玻璃筒內。而選擇性試驗時，則先準備各帶有 10 隻第一齡、10 隻第二齡及 10 隻第三齡寄主幼蟲之 3 片罐插菜豆葉片，將其置入上述相同大小之玻璃筒內。然後在 25℃定溫下，釋入第五日齡已有產卵經驗之雌蜂 1 隻，任其產卵。各處理雌蜂產卵時段，為上午 9 點至下午 1 點之 4 小時。15 日後，記錄羽化之雌與雄蜂數。無選擇性試驗，每一處理組做 8–29 重複；選擇性試驗，每一處理組做 19–29 重複。

寄主與齡期對臺潛蠅釉蜂子蜂數、雌性比及體型大小之影響

測試不同寄主 (南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅) 與齡期，對臺潛蠅釉蜂子代數、雌性比及體型大小之影響。將內有 200 隻第一齡、或第二齡、或第三齡寄主幼蟲潛食之罐插菜豆葉片 (每葉 20–30 隻)，將它各置入上述相同大小之壓克力筒內。然後在 25℃定溫下，引入第五日齡已有產卵經驗之雌蜂 10 隻，任其產卵 4 小時 (上午 9 點至下午 1 點間)，然後將罐插菜豆苗移出。15 日後，記錄羽化之雌與雄蜂數、子代雌性比 [♀/(♀ + ♂)] 及成蜂大小，各做 3–5 重複。

統計分析

各項處理之試驗資料利用SAS-EG (SAS

Enterprise Guide) 4.1 版本統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，再以最小顯著差異性 (least significant difference, LSD) 測驗，在 5% 顯著水準下比較處理間平均值之差異。若遇百分率時，資料先進行角度轉換 (arcsine transformation)，再進行分析。

結　果

三種寄主對臺潛蠅繭蜂發育之影響

臺潛蠅繭蜂不論寄生在南美斑潛蠅、或蔬菜斑潛蠅、或非洲菊斑潛蠅寄主上，其卵至蛹期之發育期為 15.0–15.5 日 (表 1)，存活率為 79.2–89.0% (表 2)，各處理間均無顯著差異，顯示寄主種類對臺潛蠅繭蜂之發育期與存活率均無顯著影響。

寄主齡期對臺潛蠅繭蜂產卵偏好性之影響

臺潛蠅繭蜂在寄主齡期無選擇性試驗，雌蜂在寄主第一、二及三齡幼蟲之產卵數，當寄主為南美斑潛蠅時各為 10.9、13.9 及 14.3 粒，蔬菜斑潛蠅時各為 11.2、14.3 及 13.8 粒，非洲菊斑潛蠅時各為 11.6、14.6 及 14.3 粒，顯示臺潛蠅繭蜂不論寄主種類，雌蜂產卵時均顯著偏好寄主第二與三齡幼蟲，且此二處理間無顯著差異 (表 3)。在寄主齡期選擇性試驗中，當寄主為南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅時，雌蜂在第二或三齡幼蟲上之產卵數間雖無顯著差異，但均顯著較第一齡幼蟲上之產卵數各增多 3.1–3.6、1.5–2.1 及 3.4–3.9 倍 (表 3)。

寄主與齡期對臺潛蠅繭蜂子蜂數、雌性比及體型大小之影響

臺潛蠅繭蜂在寄主齡期無選擇性下，不論寄生在寄主第一、二及三齡幼蟲，在當寄主為南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅時，其子代雌蜂體長各為 1.782–1.815、1.724–1.728 及 1.811–1.815 mm，體寬各為 0.362–0.366、

表 1. 寄主種類對臺潛蠅繭蜂卵、幼蟲、前蛹、蛹及卵至蛹期發育之影響

Table 1. Effect of host species on duration (d) of egg, larval, prepupal, pupal and egg to pupal stages of *Opius caricivorae* [z]

	Duration (d) of the stages of *Opius caricivorae*									
	Egg		Larva		Prepupa		Pupa		Egg-pupa	
Host species	*n*	Mean ± SEM [y]	*n*	Mean ± SEM	*n*	Mean ± SEM	*n*	Mean ± SEM	*n*	Mean ± SEM
Liriomyza huidobrensis	33	2.2 ± 0.0 a	26	5.0 ± 0.3 a	26	1.9 ± 0.3 a	26	6.4 ± 0.2 a	26	15.5 ± 0.2 a
Liriomyza sativae	20	2.2 ± 0.0 a	17	5.0 ± 0.1 a	17	1.7 ± 0.1 a	17	6.1 ± 0.2 a	17	15.0 ± 0.2 a
Liriomyza trifolii	42	2.2 ± 0.0 a	37	4.9 ± 0.1 a	37	1.8 ± 0.1 a	37	6.1 ± 0.2 a	37	15.0 ± 0.3 a

[z] The experiment was conducted at 25℃.

[y] SEM: standard error of mean. Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 2. 寄主種類對臺潛蠅繭蜂卵、幼蟲、前蛹、蛹及卵至蛹期存活率之影響

Table 2. Effect of host species on survival (%) of egg, larval, prepupal, pupal, and egg to pupal stages of *Opius caricivorae* [z]

	Survival (%) of the stages of *Opius caricivorae*				
Host species	Egg	Larva	Prepupa	Pupa	Egg to pupa
Liriomyza huidobrensis	100.0 ± 0.0 a [y]	79.2 ± 2.1 a	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	79.2 ± 2.1 a
Liriomyza sativae	100.0 ± 0.0 a	89.0 ± 3.6 a	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	89.0 ± 3.6 a
Liriomyza trifolii	100.0 ± 0.0 a	87.5 ± 1.8 a	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a	87.5 ± 1.8 a

[z] The experiment was conducted with four replicates at 25℃, 27–32 eggs/treatment.

[y] Mean (Y) ± standard error. Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by LSD test. Data were arcsine-square-root (1-Y) transformed prior to analysis.

表 3. 臺潛蠅繭蜂對三種斑潛蠅幼蟲不同齡期之偏好性

Table 3. Preference of *Opius caricivorae* on different instars of three leafminer species

Instars of leafminer	No-choice test [z]		Free-choice test [y]	
	n	No. wasps emerged	*n*	No. wasps emerged
Liriomyza huidobrensis				
1st	18	10.9 ± 0.6 b [x]	21	1.6 ± 0.3 b
2nd	18	13.9 ± 1.1 a	21	7.4 ± 0.3 a
3rd	18	14.3 ± 0.7 a	21	6.5 ± 0.5 a
Liriomyza sativae				
1st	22	11.2 ± 0.6 b	12	2.2 ± 0.2 b
2nd	21	14.3 ± 0.9 a	12	5.5 ± 0.4 a
3rd	23	13.8 ± 0.7 a	12	6.8 ± 0.4 a
Liriomyza trifolii				
1st	17	11.6 ± 0.7 b	20	1.5 ± 0.3 b
2nd	20	14.6 ± 0.7 a	20	6.6 ± 0.4 a
3rd	24	14.3 ± 0.6 a	20	7.4 ± 0.5 a

[z] Each 5-day-old female wasp with egg-laying experience was provided with 20 larvae of leafminer during 9:00–13:00 in an acrylic cylinder (20 cm diameter × 25 cm height) at 25℃, 65–85% RH and a photoperiod of 14L:10D.

[y] Each 5-day-old female wasp with egg-laying experience was provided with 30 larvae of leafminer (10 1st-instar, 10 2nd-instar and 10 3rd-instar) during 9:00–13:00 in an acrylic cylinder (20 cm diameter × 25 cm height) at 25℃, 65–85% RH and a photoperiod of 14L:10D.

[x] Mean ± standard error. Means within each column of *L. huidobrensis*, *L. sativae* and *L. trifolii*, followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by LSD test.

0.348–0.356 及 0.367 mm；雄蜂體長各為 1.797–1.802、1.648–1.655 及 1.800–1.811 mm，體寬各為 0.358–0.359、0.338–0.345 及 0.359–0.363 mm，顯示不論寄主種類，臺潛蠅繭蜂成蜂大小均不受寄主齡期影響，處理間無顯著差異 (表 4)。但子蜂數與子代雌性比卻受寄主齡期影響，不論寄主種類，寄生第一齡寄主者其子蜂數顯著較寄生第二、三齡寄主者減少 24.4–32.8%，其子代雌性比亦顯著較寄生第二、三齡寄主者減少 19.6–35.2%，顯示臺潛蠅繭蜂較偏好在斑潛蠅第二與三齡幼蟲上繁殖 (表 4)。

討　　論

臺潛蠅繭蜂寄主範圍包括雙翅目潛蠅 15 種 (Lin & Wang 1992; Chien & Ku 1998; Chen *et al.* 2003; Yu *et al.* 2009; Chien & Chang 2012a)。在台灣亦可發現該蜂寄生在三種主要農作物斑潛蠅，即南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅 (Chien & Chang unpublished data) 及非洲菊斑潛蠅 (Lin & Wang 1992; Chien & Ku 1998)。本文證實不論寄主為南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅、或非洲菊斑潛蠅，臺潛蠅繭蜂之發育期 (15.0–15.5 日) 與存活率 (79.2–89.0%) 均不受寄主種類之影響。

寄生蜂與寄主在長期共同演化中，行內寄生生活方式之寄生蜂常需發展對抗寄主包埋其卵之包囊 (encapsulation) 反應，或藉對寄主較低齡期之偏好性以免遭受寄主之防禦反應 (Chien 1997)。臺潛蠅繭蜂行單員幼蟲至蛹內寄生，其產卵方式屬共育寄生 (koinobiont) (Chien & Ku 2001)。有關該蜂對抗寄主防禦反應之策略，Wan *et al.* (2005) 藉由臺潛蠅繭蜂寄生因子對寄主生理效應之觀察，推測係雌蜂毒腺分泌之毒液抑制了寄主對其蜂卵的包囊作用。本文則藉寄生蜂產卵對寄主齡期之偏好性試驗，證實臺潛蠅繭蜂並非以對寄主較低齡期

表 4. 臺潛蠅繭蜂寄生在三種斑潛蠅幼蟲不同齡期後之子蜂數、雌性比及成蜂大小

Table 4. Number of adult progeny, female proportion and body size of *Opius caricivorae* on different instars of three leafminer species

Instars of leafminer	No. progeny produced/10♀ [z]		Female wasp [y]		Male wasp [y]	
	No. wasps	Female proportion	Body length (mm)	Body width (mm)	Body length (mm)	Body width (mm)
Liriomyza huidobrensis						
1st	68 ± 7 b [x]	0.37 ± 0.01 b	1.808 ± 0.003 a	0.362 ± 0.001 a	1.797 ± 0.004 a	0.358 ± 0.003 a
2nd	91 ± 6 a	0.46 ± 0.01 a	1.782 ± 0.003 a	0.364 ± 0.001 a	1.799 ± 0.003 a	0.359 ± 0.002 a
3rd	90 ± 4 a	0.50 ± 0.02 a	1.815 ± 0.003 a	0.366 ± 0.003 a	1.802 ± 0.004 a	0.358 ± 0.003 a
Liriomyza sativae						
1st	82 ± 7 b	0.39 ± 0.02 b	1.724 ± 0.003 a	0.348 ± 0.003 a	1.648 ± 0.003 a	0.338 ± 0.003 a
2nd	117 ± 8 a	0.49 ± 0.02 a	1.728 ± 0.003 a	0.356 ± 0.003 a	1.648 ± 0.003 a	0.341 ± 0.003 a
3rd	122 ± 12 a	0.57 ± 0.04 a	1.728 ± 0.003 a	0.356 ± 0.003 a	1.655 ± 0.003 a	0.345 ± 0.003 a
Liriomyza trifolii						
1st	87 ± 5 b	0.35 ± 0.02 b	1.811 ± 0.003 a	0.367 ± 0.003 a	1.800 ± 0.003 a	0.359 ± 0.003 a
2nd	127 ± 4 a	0.53 ± 0.03 a	1.815 ± 0.003 a	0.367 ± 0.003 a	1.811 ± 0.003 a	0.363 ± 0.003 a
3rd	123 ± 8 a	0.54 ± 0.02 a	1.811 ± 0.003 a	0.367 ± 0.003 a	1.804 ± 0.003 a	0.359 ± 0.003 a

[z] In each treatment, 200 larvae of leafminer were provided for ten 5-day-old female wasps with egg-laying experience during 9:00–13:00 in an acrylic cylinder (20 cm diameter × 25 cm height) and kept at 25℃.

[y] In each treatment 20 wasps were sampled.

[x] Mean ± standard error ($n = 3–7$). Means within each column of *L. huidobrensis*, *L. sativae* and *L. trifolii*, followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by LSD test.

之偏好性對抗寄主之防禦反應，因該蜂不僅在寄主斑潛蠅三種不同齡期上均可產卵，且顯著偏好產卵在寄主第二與三齡幼蟲。

一般行非共育寄生 (idiobiont) 之寄生蜂，為達子代營養需求與適應值 (體型大小、產卵量、雌性比等) 之提升，產卵時偏好選擇較大齡期之寄主，如寄生非洲菊斑潛蠅之異角釉小蜂 [*Hemiptarsenus varicornis* (Girault)]、華釉小蜂 [*Neochrysocharis formosa* (Westwood)]、底比斯釉小蜂 [*Chrysocharis pentheus* (Walker)] 及岡琦釉小蜂 [*Closterocerus okazakii* (Westwood)]，產卵時均偏好寄主第三齡幼蟲 (Chien & Ku 2001)。臺潛蠅繭蜂產卵方式屬共育寄生 (Chien & Ku 2001)，本文證實因其與寄主共育寄生之特性，子代營養需求不受限，致使寄主齡期不影響寄生蜂子代發育與子蜂體型大小，但子蜂數與雌性比卻仍顯著受寄主齡期影響，寄生第一齡寄主者其子蜂數與雌性比較寄生第二、三齡寄主者，各減少 24.4–32.8% 與 19.6–35.2%。

臺潛蠅繭蜂在 15–25℃時對南美斑潛蠅、15–30℃時對蔬菜斑潛蠅族群均具有強勢至相當之抑制力，為二者之有效寄生蜂 (Chien & Chang 2012b)。為發揮寄生蜂對寄主之抑制能力，有關臺潛蠅繭蜂之接蜂方法、寄主植物、生活史、接蜂空間、寄生蜂與寄主之適當繁殖比例及溫度等已有報導 (Chien & Chang 2012a, 2012b)。今藉本試驗觀察寄主與齡期對臺潛蠅繭蜂發育與繁殖之結果，更可供該蜂繁殖方法與生物防治效益評估時之參考。

引用文獻 (Literature cited)

Chen, X. X., F. Y. Lang, Z. H. Xu, J. H. He, and Y. Ma. 2003. The occurrence of leafminers and their parasitoids on vegetables and weeds in Hangzhou area, Southeast China. BioControl 48:515–527.

Chien, C. C. 1997. The strategy of parasitoid in rela-

tion to its biocontrol efficacy. Chinese J. Entomol. Spec. Pub. 10:91–118. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2012a. Morphology and life history of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae). J. Taiwan Agric. Res. 61:144–157. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2012b. Effect of host and temperature on population increase and parasitism of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae). J. Taiwan Agric. Res. 61:172–185. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Ku. 1996. Morphology, life history and reproductive ability of *Liriomyza trifolii*. J. Agric. Res. China 45:69–88. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Ku. 1998. The occurrence of *Liriomyza trifolii* and its parasitoids on fields of *Gerbera jamesonii*. Chinese J. Entomol. 18:187–197. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Ku. 2001. Instar preference of five species of parasitoids of *Liriomyza trifolii* (Hymenoptera: Eulophidae, Braconidae). Formosan Entomol. 21:89–97. (in Chinese with English abstract)

Lin, F. C. and C. L. Wang. 1992. The occurrence of parasitoids of *Liriomyza trifolii* (Burgess) in Taiwan. Chinese J. Entomol. 12:247–257. (in Chinese with English abstract)

Wan, Z. W., X. X. Chen, H. Yu, and J. H. He. 2005. The parasitoid-associated factors of *Opius caricivorae* Fischer and their physiological effects on host. Acta Entomol. Sin. 48:660–666. (in Chinese with English abstract)

Xu, P., Z. W. Wan, X. X. Chen, S. Liu, and M. G. Feng. 2007a. Immature morphology and development of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae), an endoparasitoid of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 100:425–432.

Xu, P., C. S. Yin, H. Yu, and X. X. Chen. 2007b. Influence of temperature on functional response of *Opius caricivorae* to larvae of *Liriomyza sativae*. Chinese Bull. Entomol. 44:89–92. (in Chinese with English abstract)

Yin, C. S., X. X. Chen, F. Y. Lang, and J. H. He. 2003. Biological characteristics of adult *Opius caricivorae* Fischer, a parasitoid of *Liriomyza sativae* Blandchard. Acta Entomol. Sin. 46:505–511. (in Chinese with English abstract)

Yu, D. S., K. van Achterberg, and K. Horstmann. 2009. World Ichneumonoidea 2009, taxonomy, biology, morphology and distribution. Taxapad 2009. Scientific names for information management. Flash Disk. ISBN-13/EAN:9780973117226.

Effect of Host and Instar Preference on the Development and Oviposition of the Endoparasitoid *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae)[1]

Ching-Chin Chien[2,3] and Shu-Chen Chang[2]

Abstract

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2012. Effect of host and instar preference on the development and oviposition of the endoparasitoid *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae). J. Taiwan Agric. Res. 61:165–171.

Opius caricivorae Fischer is a larval-pupal endoparasitoid of the three leafminer species, *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard), *Liriomyza sativae* Blanchard and *Liriomyza trifolii* (Burgess), in Taiwan. This study was conducted to determine biological control potential and mass-rearing method of this wasp by investigating effects of host species and different instars of hosts (*L. huidobrensis*, *L. sativae*, and *L. trifolii*) on the development, number of progeny and female proportion of *O. caricivorae* at 25℃. Results showed that there were no significant ($P < 0.05$) effect among the three species of leafminer on survival and development of the wasp. Although female wasps could oviposite on larvae of all the three different instars of the three species of leafminers, the female wasps preferred to oviposite on the second and third instars in both experiments of no-choice and free-choice of instars. Also, effect of instars of leafminer was significant ($P < 0.05$) on number of progeny and female proportion of wasps, but was no significant ($P < 0.05$) on body size of wasps. The number of progeny from the parasitized, first instar leafminer decreased by 24.4–32.8% compared to the second and third instar leafminer. The proportion of female wasps from the parasitized, first instar leafminer decreased by 19.6–35.2% compared to the second and third instar leafminer. This study indicates that the second and third instar larvae of leafminer are suitably provided for rearing of *O. caricivorae*.

Key words: *Opius caricivorae*, *Liriomyza huidobrensis*, *Liriomyza sativae*, *Liriomyza trifolii*, Instars preference.

---

1. Contribution No. 2639 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: January 11, 2012.
2. Respectively, Former Senior Entomologist and Assistant Entomologist, Applied Zoology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: chien@tari.gov.tw; Fax: (04)23317600.

寄主與溫度對薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae*) (膜翅目：小繭蜂科) 族群增長與寄生能力之影響[1]

錢景秦[2,3] 張淑貞[2]

摘　　要

錢景秦、張淑貞。2012。寄主與溫度對薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae*) (膜翅目：小繭蜂科) 族群增長與寄生能力之影響。台灣農業研究 61:172–185。

以二種寄主南美斑潛蠅 [*Liriomyza huidobrensis* (Blanchard)]、蔬菜斑潛蠅 (*Liriomyza sativae* Blanchard) 及 6 個溫度 10、15、20、25、30 及 35℃進行其對薹潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae* Fischer) 族群增長與寄生能力之研究。得知該蜂發育溫度受寄主種類之影響，寄主為南美斑潛蠅時，適溫帶為 10–25℃，其間該蜂卵至蛹期之存活率為 62.6–91.2%，發育日數為 15.5–82.6 日。寄主為蔬菜斑潛蠅時適溫帶為 10–30℃，其間該蜂卵至蛹期之存活率為 52.5–89.0%，發育日數為 11.4–81.0 日。在這二種寄主上，該蜂卵至蛹期之發育臨界低溫各為 7.03℃與 7.61℃。當寄主為南美斑潛蠅時，該蜂卵、幼蟲、前蛹、蛹及卵至蛹期之發育有效積溫各為 40、88、36、125 及 286 日度；若寄主為蔬菜斑潛蠅時，則各為 36、83、31、112 及 263 日度。該蜂一生寄生南美斑潛蠅總數於 10、15、20 及 25℃定溫下各為 10、156、146 及 259 隻，寄生蔬菜斑潛蠅總數於 10、15、20、25 及 30℃定溫下各為 18、171、257、277 及 216 隻。在 25℃下當寄主各為南美斑潛蠅與蔬菜斑潛蠅時，雌蜂每日內在增殖率 (r_m) 各為 0.1874 與 0.2223，每世代每雌淨增殖率 (R_o) 各為 116.413 隻雌蜂與 152.113 隻雌蜂，平均世代時間 (T) 各為 25.38 日與 22.60 日。於 10–35℃定溫、每日僅以蜂蜜餵食、無寄主供應時，雌、雄蜂壽命最長者各為 10℃時之 108.4 日與 66.2 日，同時供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜時，雌蜂壽命最長者為 20℃時之 34.3 日，雄蜂壽命最長者為 10℃時之 53.6 日。顯示薹潛蠅繭蜂因受限溫度對寄主發生之影響，在 15–25℃時為南美斑潛蠅之有效寄生蜂，在 15–30℃時為蔬菜斑潛蠅之有效寄生蜂。

關鍵詞：薹潛蠅繭蜂、南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅、溫度、族群增長。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2659 號。接受日期：101 年 3 月 14 日。
2. 本所應用動物組前研究員及助理研究員。台灣 台中市。
3. 通訊作者，電子郵件：chien@tari.gov.tw；傳真機：(04)23317600。

前　言

臺潛蠅繭蜂 (*Opius caricivorae* Fischer) 屬膜翅目 (Hymenoptera)、小繭蜂科 (Braconidae)、蠅繭蜂屬 (*Opius*)。分布於西舊北區、歐洲、東舊北區及東方等地 (Yu *et al.* 2009)。該蜂為多食性，在台灣寄生南美斑潛蠅 [*Liriomyza huidobrensis* (Blanchard)]、蔬菜斑潛蠅 (*Liriomyza sativae* Blanchard) (Chien & Chang unpublished data) 及非洲菊斑潛蠅 [*Liriomyza trifolii* (Burgess)] (Lin & Wang 1992; Chien & Ku 1998)。

臺潛蠅繭蜂寄生方式屬幼蟲至蛹單員內寄生 (Chien & Ku 2001; Yin *et al.* 2003)。其產卵方式屬共育寄生 (koinobiont) (Chien & Ku 2001)。該蜂交尾與否對生育力無影響，雌蜂有取食寄主現象卻不致死寄主，雌蜂產卵數、過寄生率及對寄主之利用率均顯著受寄主蔬菜斑潛蠅密度影響 (Chien & Chang 2012a)。25℃下寄主種類 (南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅) 對該蜂之發育期與存活率均無顯著影響，雌蜂雖均可在三種寄主不同齡期上產卵，但均顯著偏好產卵於寄主第二與三齡幼蟲，成蜂體型大小雖不受寄主齡期影響，但子蜂數與子代雌性比卻受寄主齡期影響，寄生第一齡寄主者其子蜂數顯著較寄生第二、三齡寄主者減少 24.4–32.8%，子代雌性比顯著較寄生第二、三齡寄主者減少 19.6–35.2% (Chien & Chang 2012b)。

為深入瞭解寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂齡別生命表、致死寄主能力及壽命等之影響，乃進行本試驗，冀能提供該蜂繁殖技術與應用之參考。

材料與方法

寄主植物、寄主害蟲及寄生蜂之飼育

本試驗所用之南美斑潛蠅與蔬菜斑潛蠅蟲源、寄主植物菜豆 (*Phaseolus vulgaris* var. *communis* Aeschers) 苗及寄主南美斑潛蠅與蔬菜斑潛蠅之繁殖方法係參照 Chien & Chang (2007, 2008a) 所述。臺潛蠅繭蜂之蟲源與繁殖方法則參照 Chien & Chang (2012a, 2012b) 所述，即以帶有第三齡蔬菜斑潛蠅幼蟲潛食之罐插菜豆苗繁殖臺潛蠅繭蜂。

寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂發育之影響

由於寄生蜂各蟲期發育時間短，為確實瞭解不同寄主與溫度下臺潛蠅繭蜂之發育，乃利用在 25℃下雌蜂 2 小時內所產下之同齡蜂卵為試材。當研究臺潛蠅繭蜂齡別生命表時，由於需以日齡為準，乃利用在 25℃下雌蜂 24 小時內所產下之同齡蜂卵為試材。試驗進行中首先參照 Chien & Ku (2001) 之方法，以帶有第三齡南美斑潛蠅、或蔬菜斑潛蠅幼蟲潛食之罐插菜豆苗，供雌蜂產卵 2 小時或 24 小時，然後將此帶有 30–50 粒二種同齡蜂卵之罐插菜豆苗，各放入 10、15、20、25、30 及 35℃之定溫箱內。雌蜂產卵 2 小時之處理組，每日觀察溫度對該蜂在不同寄主上各蟲期之存活率與發育日數之影響，並在近各蟲期或齡期蛻皮之際，每小時記錄該蜂之發育情形。雌蜂產卵 24 小時之處理組，則觀察在不同溫度與寄主處理下之一代發育期與存活率，以供後項估算該蜂齡別生命表所需之資料。其中存活率試驗每處理觀察 30–50 粒卵，各做 3–5 重複，發育期試驗各觀察 28–114 隻不等，並依 Campbell *et al.* (1974) 之方法估算該蜂之發育臨界低溫與發育有效積溫。

寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂生育力之影響

在南美斑潛蠅與蔬菜斑潛蠅上，分別測試溫度對臺潛蠅繭蜂寄生能力與子代雌性比之影響，其方法係採用臺潛蠅繭蜂卵在 15、20、25 及 30℃不同定溫下發育、正常羽化之 0 日齡成蜂，各取 1 對置入直徑 12 cm、高 21 cm 之玻璃筒，然後再置入各原有不同溫度處理之定溫箱內。每日早上 7 點，各處理除以細毛

筆將蜂蜜塗於玻璃筒內壁，尚供應 1 株內有 40–50 隻第三齡寄主幼蟲潛食之罐插菜豆苗，直至雌蜂死亡為止。試驗期間每日將各處理所更換下內有被寄生寄主之菜豆苗移至 25℃下飼育，於接蜂後次日下午收集所有寄主蠅蛹，14 日後再記錄自寄主蠅蛹羽化之雌蜂與雄蜂數及雌性比 [♀/(♀ + ♂)]。每處理各進行 8–17 重複。

臺潛蠅繭蜂之齡別生命表

參照 Chien & Chang (2008b) 之方法，利用前項試驗各得之 24 小時內同齡蜂卵在不同溫度與寄主處理中一代發育期與存活率資料，及雌蜂各日齡繁殖之子蜂數與雌性比等資料，代入 Birch (1948) 之公式，以估算該蜂在各不同寄主與定溫下之族群介量，如內在增殖率 (intrinsic rate of increase, r_m)，終極增殖率 (finite rate of increase, λ)、淨增殖率 (net reproductive rate, R_o) 及平均世代時間 (mean generation time, T) 等。每處理各進行 8–17 重複。

溫度與食物對成蜂壽命之影響

試驗分二種方式進行，即在無寄主或有寄主供應下，測試不同溫度下食物存在與否對成蜂壽命之影響。無寄主處理組之試驗方法，係將於 25℃下初羽化之 10 對成蜂引入高 7 cm、直徑 1.5 cm 之指形管，然後在無寄主供應下，每日以細毛筆塗畫於玻璃管內壁之方式，分別餵以蜂蜜或水，另設一不餵食任何食物之對照組。其中餵食蜂蜜之處理組，係將內有成蜂之指形管各放入 10、15、20、25、30 及 35℃等不同溫度之定溫箱，而餵食水、或不餵食任何食物之對照組，則將內有成蜂之指形管放入 25℃定溫箱，每日觀察成蜂之壽命，各做 5 重複。而有寄主供應處理組之試驗方法，則係利用上項試驗之結果，即成蜂在 10、15、20、25 及 30℃等不同溫度下，每日供應蔬菜斑潛蠅寄主且餵食蜂蜜時，測試溫度對其壽命之影響。各進行 8–17 重複。

統計分析

各項處理之試驗資料利用 SAS-EG (SAS Enterprise Guide) 4.1 版本統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，再以最小顯著差異性 (least significant difference, LSD) 測驗，在 5% 顯著水準下比較處理間平均值之差異。若遇百分率時，資料先進行角度轉換 (arcsine transformation)，再進行分析。尚利用迴歸分析法，顯示寄生蜂各蟲期發育速率 (y) 與溫度 (x) 之關係，並採 1% 之顯著水準進行迴歸之變異數分析。

結　　果

寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂發育之影響

臺潛蠅繭蜂卵至蛹期之存活率，不論寄主為南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅，在 10℃時各達 62.6% 與 52.5%，在 15–25℃下各高達 79.2–91.2% 與 85.8–89.0% (表 1)。但在高溫時該蜂之發育卻因寄主而不同，30℃下寄主為南美斑潛蠅時，蜂卵之孵化率為 0%；寄主為蔬菜斑潛蠅時，30℃下蜂卵至蛹期之存活率仍達 67.4%，35℃時蜂卵之孵化率才降為 30.4%，但幼蟲存活率為 0% (表 1)。

臺潛蠅繭蜂不論寄生在南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅，該蜂各蟲期之發育日數均隨溫度之升高而縮短 (表 2)；且其發育速率隨其發育適溫範圍內溫度之升高而增快，二者間呈直線迴歸關係 (表 3)，卵、幼蟲、前蛹、蛹及卵至蛹等蟲期之發育臨界低溫各為 7.92 與 8.85、7.78 與 8.32、5.80 與 6.84、5.88 與 6.45 及 7.03℃與 7.61℃；發育有效積溫各為 40 與 36、88 與 83、36 與 31、125 與 112 及 286 日度與 263 日度 (表 3)。

寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂壽命與生育力之影響

由表 4 得知臺潛蠅繭蜂每日供應 40–50 隻南美斑潛蠅寄主，雌蜂壽命在 15、20 及

表 1. 寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂卵、幼蟲、前蛹、蛹及卵至蛹期存活率之影響

Table 1. Effect of host species and temperatures on the survival of egg, larval, prepupal, pupal and egg to pupal satages of *Opius caricivorae* [z]

	Survival (%) of the stages of *Opius caricivorae*				
Temp. (℃)	Egg	Larva	Prepupa	Pupa	Egg to pupa
Host: *Liriomyza huidobrensis*					
10	95.8 ± 1.4 [y]	74.5 ± 4.1	97.4 ± 2.6	90.5 ± 1.5	62.6 ± 7.3
15	96.0 ± 1.2	95.5 ± 1.1	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	91.2 ± 3.0
20	100.0 ± 0.0	81.4 ± 3.3	99.1 ± 0.9	99.6 ± 0.4	80.3 ± 2.7
25	100.0 ± 0.0	79.2 ± 2.1	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	79.2 ± 2.1
30	0.0 ± 0.0	–	–	–	0.0 ± 0.0
Host: *Liriomyza sativae*					
10	91.3 ± 0.7	65.3 ± 5.4	94.6 ± 3.0	91.4 ± 2.8	52.5 ± 4.7
15	98.6 ± 1.4	94.4 ± 2.2	97.4 ± 1.6	94.6 ± 1.8	85.8 ± 4.2
20	97.5 ± 1.7	89.4 ± 1.0	100.0 ± 0.0	99.2 ± 0.8	86.4 ± 0.8
25	100.0 ± 0.0	89.0 ± 3.6	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	89.0 ± 3.6
30	100.0 ± 0.0	80.7 ± 4.1	92.1 ± 3.1	90.3 ± 2.3	67.4 ± 6.3
35	30.4 ± 1.7	0.0 ± 0.0	–	–	0.0 ± 0.0

[z] The experiment was conducted with three to five replicates, 30–50 eggs/treatment.
[y] Values are mean ± standard error.

表 2. 寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂卵、幼蟲、前蛹、蛹及卵至蛹期發育日數之影響

Table 2. Effect of host species and temperatures on duration of egg, larval, prepupal, pupal and egg to pupal stages of *Opius caricivorae*

	Duration (d) of the stages of *Opius caricivorae*									
	Egg		Larva		Prepupa		Pupa		Egg to pupa	
Temp. (℃)	*n*	Mean ± SEM [z]	*n*	Mean ± SEM	*n*	Mean ± SEM	*n*	Mean ± SEM	*n*	Mean ± SEM
Host: *Liriomyza huidobrensis*										
10	114	15.0 ± 0.0	109	28.2 ± 0.4	81	10.7 ± 1.3	78	28.7 ± 1.3	70	82.6 ± 1.3
15	50	5.7 ± 0.0	48	15.2 ± 0.6	46	3.4 ± 0.8	46	13.7 ± 0.5	46	38.0 ± 0.5
20	32	3.8 ± 0.0	28	7.0 ± 0.2	27	2.5 ± 0.2	27	9.0 ± 0.3	27	22.3 ± 0.1
25	35	2.2 ± 0.0	35	5.0 ± 0.0	30	1.9 ± 0.1	30	6.4 ± 0.1	30	15.5 ± 0.2
Host: *Liriomyza sativae*										
10	105	15.1 ± 0.1	96	28.0 ± 0.9	63	11.2 ± 0.7	60	26.7 ± 0.7	54	81.0 ± 0.1
15	30	5.8 ± 0.0	30	15.5 ± 1.0	28	3.1 ± 0.8	28	13.0 ± 0.6	28	37.4 ± 0.6
20	32	3.9 ± 0.0	32	7.4 ± 0.2	30	2.7 ± 0.1	30	9.0 ± 0.2	30	23.0 ± 0.4
25	42	2.2 ± 0.0	40	5.0 ± 0.0	37	1.7 ± 0.2	37	6.1 ± 0.2	37	15.0 ± 0.2
30	45	1.8 ± 0.0	45	3.7 ± 0.1	38	1.3 ± 0.1	36	4.6 ± 0.1	36	11.4 ± 0.2
35	39	1.3 ± 0.0		–		–		–		–

[z] SEM: standard error of mean.

25℃時為 20.9–23.9 日，處理間無顯著差異，其中僅 25℃ (20.9 日) 處理與 10℃ (27.8 日) 處理間呈顯著差異；雄蜂壽命 10℃時最長 (46.6 日)，15℃與 20℃時次之 (28.4 日與 27.0 日)，25℃時最短 (18.5 日)，處理間呈顯著差異；雌、雄蜂壽命間之差異僅在 10℃時雄蜂

表 3. 二種寄主上臺潛蠅繭蜂未成熟期之發育速率、發育臨界低溫及發育有效積溫

Table 3. Linear regression of developmental rates, low developmental thresholds (℃), and degree-days (℃-days) required for immature stages of *Opius caricivorae* on two host species

	Opius caricivorae				
	Linear regression model			Low developmental threshold [y] (Mean ± SEM) [x]	Degree-days [y] (Mean ± SEM)
Stages of host	Intercept	Slope [z]	R^2		
Host: *Liriomyza huidobrensis* [w]					
Egg	-0.1980	0.0250**	0.9692	7.92 ± 0.73	40 ± 5
Larva	-0.0887	0.0114**	0.9759	7.78 ± 0.65	88 ± 10
Prepupa	-0.1631	0.0281**	0.9797	5.80 ± 0.57	36 ± 4
Pupa	-0.0470	0.0080**	0.9982	5.88 ± 0.35	125 ± 8
Egg to pupa	-0.0246	0.0035**	0.9949	7.03 ± 0.39	286 ± 20
Host: *Liriomyza sativae* [w]					
Egg	-0.2461	0.0278**	0.9800	8.85 ± 0.61	36 ± 3
Larva	-0.1007	0.0121**	0.9837	8.32 ± 0.52	83 ± 6
Prepupa	-0.2223	0.0325**	0.9741	6.84 ± 0.68	31 ± 3
Pupa	-0.0574	0.0089**	0.9909	6.45 ± 0.48	112 ± 8
Egg to pupa	-0.0289	0.0038**	0.9912	7.61 ± 0.46	263 ± 17

[z] Denote significant difference at 1% level.
[y] Estimated according to Campbell *et al.* (1974).
[x] SEM: standard error of mean.
[w] The developmental rates were surveyed from 10℃ to 25℃ on *L. huidobrensis*, and 10℃ to 30℃ on *L. sativae*.

壽命顯著較雌蜂長，其餘溫度下雌、雄蜂壽命間則無顯著差異。子蜂數在 25、15 與 20、10℃時，各為 259、156 與 146、10 隻，處理間呈顯著差異；子代雌性比在 10、15、20 及 25℃時，各為 0.03、0.46、0.59 及 0.52，其中除 20℃與 25℃、25℃與 15℃處理間無顯著差異外，其餘處理間均呈顯著差異。

每日供應 40–50 隻蔬菜斑潛蠅寄主，雌蜂壽命在 20℃時為 34.3 日，10、15 及 25℃時為 20.3–23.1 日，30℃時為 13.1 日，處理間呈顯著差異；雄蜂壽命在 10℃下最長 (53.6 日)，其次為 20℃ (29.6 日)，15℃與 25℃再次 (23.4 日與 21.4 日)，30℃時最短 (10.6 日)，處理間呈顯著差異；雌、雄蜂壽命間僅在 10℃時雄蜂壽命顯著較雌蜂長，其餘溫度雌、雄蜂間則無顯著差異。在 10、15、20、25 及 30℃時，子蜂數各為 18、171、257、277 及 216 隻，子代雌性比各為 0.13、0.44、0.58、0.62 及 0.52，二者均除 25℃與 20℃、20℃ 與 30℃處理間無顯著差異外，其餘處理間均呈顯著差異 (表 4)。

寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂日寄生型式之影響

由圖 1 所示臺潛蠅繭蜂日寄生型式中，得知雌蜂產卵前期無論寄主為南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅，在 10℃時均為 3 日，在 15–25℃時均為 0–1 日；雌蜂產卵後期則視寄主而不同，寄主為南美斑潛蠅時在 10–25℃為 2–5 日，寄主為蔬菜斑潛蠅時在 10℃與 25℃時各長達 16 日與 9 日，在 15、20 及 30℃時各為 4、4 及 1 日。雌蜂產卵期與每日產卵數受溫度影響較大。當寄主為南美斑潛蠅，雌蜂在 10、15、20 及 25℃下產卵期各為 34、28、23 及 25 日，每日產卵數各為 0.0–1.5、0.3–15.3、0.2–13.8 及 1.0–23.11 粒；當寄主為蔬菜斑潛蠅，雌蜂在 10、15 與 20、25、30℃下產卵期各為 18、29 與 33、27、25 日，每日產卵數各為 0.0–2.7、0.0–18.5、0.3–28.8、0.1–24.6 粒。

表 4. 寄主與溫度對薹潛蠅繭蜂壽命、生育力及雌性比之影響

Table 4. Effect of host species and temperatures on longevity, fertility and female proportion of *Opius caricivorae* [z]

		Longevity (d) of wasp		No. progeny produced/female wasp	
Temp. (℃)	*n*	Female	Male	No. adults	Female proportion
Host: *Liriomyza huidobrensis*					
10	17	27.8 ± 2.7 Ba [y]	46.6 ± 2.1 Aa	10 ± 4 c	0.03 ± 0.02 c
15	11	23.5 ± 1.8 Aab	28.4 ± 1.8 Ab	156 ± 19 b	0.46 ± 0.04 b
20	12	23.9 ± 2.4 Aab	27.0 ± 2.1 Ab	146 ± 15 b	0.59 ± 0.03 a
25	15	20.9 ± 1.5 Ab	18.5 ± 2.4 Ac	259 ± 16 a	0.52 ± 0.03 ab
Host: *Liriomyza sativae*					
10	10	20.3 ± 2.4 Bb	53.6 ± 3.3 Aa	18 ± 4 d	0.13 ± 0.04 d
15	8	23.1 ± 2.6 Ab	23.4 ± 2.2 Ac	171 ± 17 c	0.44 ± 0.02 c
20	11	34.3 ± 2.6 Aa	29.6 ± 1.7 Ab	257 ± 21 ab	0.58 ± 0.02 ab
25	12	21.9 ± 1.9 Ab	21.4 ± 1.0 Ac	277 ± 16 a	0.62 ± 0.03 a
30	8	13.1 ± 2.1 Ac	10.6 ± 1.3 Ad	216 ± 28 bc	0.52 ± 0.04 bc

[z] One pair of adults was provided daily with 40–50 third instars of *Liriomyza sativae* and honey and reared at a given temperature in a condition of 65–85% RH and 14L:10D photoperiod.

[y] Mean ± standard error. Means within a column (in small letter) and within a row (in capital letter) of *L. huidobrensis* and *L. sativae* followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by LSD test.

寄主與溫度對薹潛蠅繭蜂齡別生命表之影響

由表 5 得知不論薹潛蠅繭蜂在寄主南美斑潛蠅於 10–25℃定溫、或在寄主蔬菜斑潛蠅於 10–30℃定溫時，該蜂族群之內在增殖率 (r_m) 與終極增殖率 (λ) 均隨溫度之上升而增加，平均世代時間 (T) 則均隨溫度之上升而縮短，顯示在寄主南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅上，該蜂族群增長最大之溫度各為 25℃與 30℃，此時雌蜂每日內在增殖率各為 0.1874 與 0.2281，族群每日終極增殖率各為 1.2061 倍與 1.2562 倍，平均世代時間各為 25.38 日與 19.15 日；但由該蜂淨增殖率 (R_o) 觀之，在寄主南美斑潛蠅上該蜂族群增長最適之溫度仍維持在 25℃，此時每一世代每雌蜂可增殖 116.413 隻雌蜂，在寄主蔬菜斑潛蠅上該蜂族群增長最適之溫度卻降為 20℃與 25℃，此時每一世代每雌蜂可各增殖 128.469 隻與 152.113 隻雌蜂，族群每日終極增殖率各為 1.1602 倍與 1.2489 倍，平均世代時間各為 32.68 日與 22.60 日。

該蜂不論在寄主南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅上，各自之齡別存活率 (l_x)、齡別繁殖率 (m_x) 及齡別淨增殖值 (v_x) 等雖與溫度有關，但就齡別存活率各處理均呈階梯形存活率曲線，至於齡別繁殖率與齡別淨增殖值彼等之曲線型式，當寄主為南美斑潛蠅時除 10℃外，在 15、20 及 25℃各處理間均相似 (圖 2)，當寄主為蔬菜斑潛蠅時，各溫度處理間均相似 (圖 3)。

溫度與食物對成蜂壽命之影響

由表 6 得知溫度與食物對成蜂壽命影響甚大。就溫度而言，每日僅以蜂蜜餵食，雌、雄蜂壽命均在 10℃時最長，15℃時次之，20℃與 25℃時再次，30℃與 35℃時最短，處理間呈顯著差異；但每日同時供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜時，雌蜂壽命在 20℃時最長，10、15 及 25℃時次之，30℃時最短，處理間呈顯著差異，雄蜂壽命則在 10℃時最長，20℃時次之，15℃與 25℃時再次，30℃時最短，處理間呈顯著差異。

就食物而言，在相同溫度下，僅供應蜂

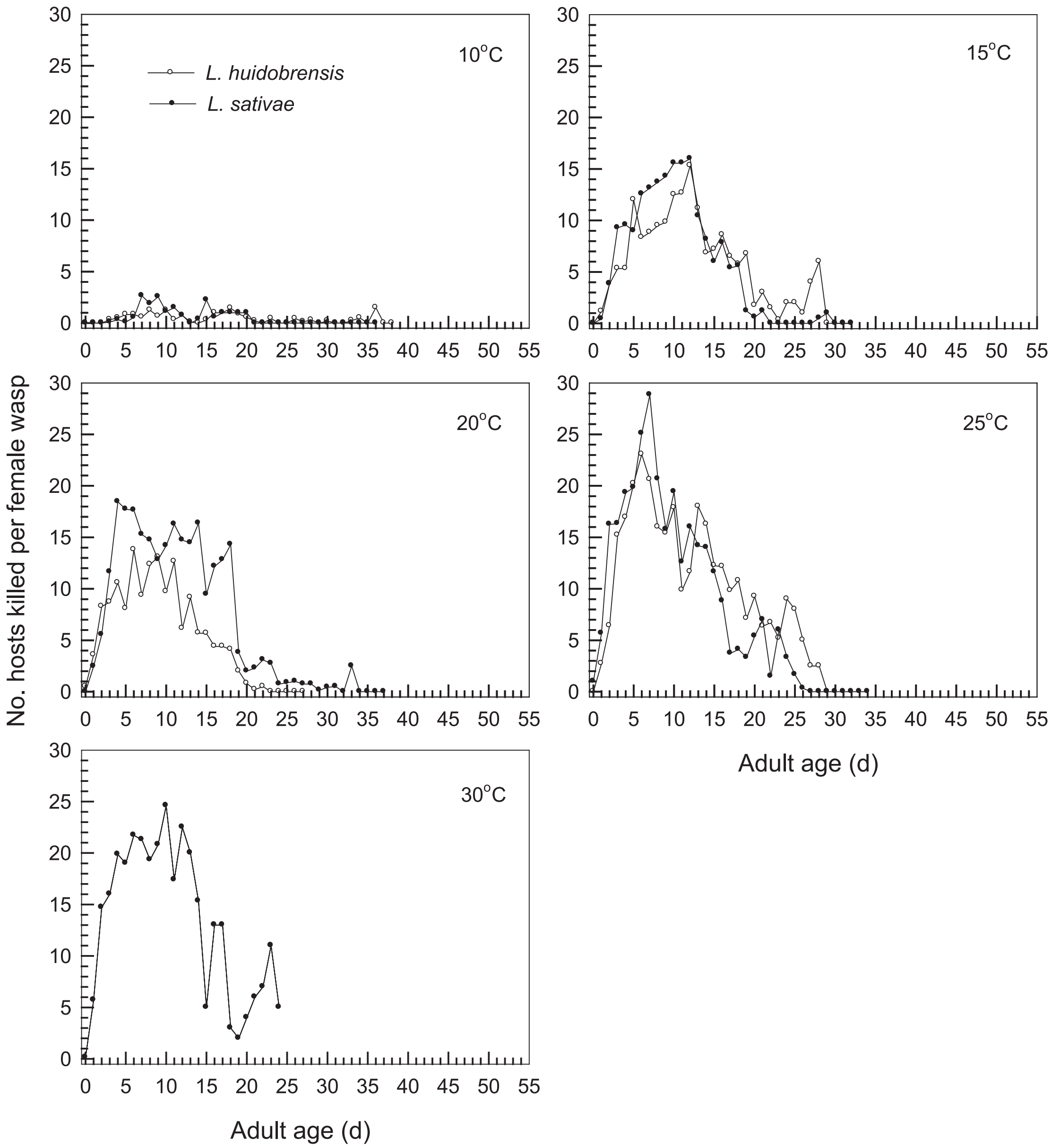


圖 1. 不同溫度下臺潛蠅繭蜂之日寄生寄主型式。

Fig. 1. Number of *Liriomyza huidobrensis* and *Liriomyza sativae* parasitized daily by *Opius caricivorae* at different temperatures.

蜜，或同時供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜時，雌蜂壽命僅在 20℃時，二種食物處理組間無顯著差異，在 10、15 及 25℃時，雌蜂取食蜂蜜者壽命各顯著較同時供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜者各延長 4.3、3.6 及 0.6 倍，但 30℃時，雌蜂取食蜂蜜者壽命卻顯著較同時

表 5. 寄主與溫度對臺潛蠅繭蜂族群介量之影響
Table 5. Effect of host species and temperatures on population parameters of *Opius caricivorae*

	Opius caricivorae [z]			
Temp. (℃)	r_m [y]	λ [y]	R_o [y]	T [y]
Host: *Liriomyza huidobrensis*				
10	-0.0144	0.9850	0.244	97.92
15	0.0859	1.0897	65.804	48.74
20	0.1401	1.1504	69.103	30.23
25	0.1874	1.2061	116.413	25.38
Host: *Liriomyza sativae*				
10	0.0012	1.0012	1.107	84.84
15	0.0873	1.0912	65.203	47.85
20	0.1486	1.1602	128.469	32.68
25	0.2223	1.2489	152.113	22.60
30	0.2281	1.2562	78.858	19.15

[z] For the calculation of population parameters, the number of eggs that survived to adult was used as the age-specific fecundity.
[y] r_m, intrinsic rate of increase (d^{-1}); λ, finite rate of increase (d^{-1}); R_o, net reproduction rate (female wasps/female); T, mean generation time (d).

表 6. 溫度與食物對臺潛蠅繭蜂壽命之影響
Table 6. Effect of temperature and food on longevity of *Opius caricivorae*

	Longevity (d) of female wasp				Longevity (d) of male wasp			
Temp. (℃)	Honey [z]	Host + honey [y]	Water [z]	Ck (none) [z]	Honey [z]	Host + honey [y]	Water [z]	Ck (none) [z]
10	108.4 ± 6.0 Aa [x]	20.3 ± 2.4 Bb	–	–	66.2 ± 5.9 Aa	53.6 ± 3.3 Aa	–	–
15	100.9 ± 1.3 Ab	21.7 ± 2.6 Bb	–	–	47.7 ± 2.2 Ab	23.4 ± 2.2 Bc	–	–
20	43.0 ± 1.5 Ac	34.3 ± 2.6 Aa	–	–	21.7 ± 1.7 Bc	29.6 ± 1.7 Ab	–	–
25	35.9 ± 2.8 Ac	21.9 ± 1.9 Bb	8.4 ± 0.2 C	3.7 ± 0.1 C	27.2 ± 1.2 Ac	21.4 ± 1.0 Bc	3.9 ± 0.2 C	3.5 ± 0.2 C
30	2.2 ± 0.1 Bd	13.1 ± 2.1 Ac	–	–	2.3 ± 0.1 Bd	10.6 ± 1.3 Ad	–	–
35	1.7 ± 0.1 d	–	–	–	1.4 ± 0.1 d	–	–	–

[z] Ten pairs of adult wasps were reared at a given temperature in a condition of 65–85% RH and 14L:10D photoperiod. There were five replicates per treatment.
[y] One pair of adult wasps was provided daily with 40–50 third instars of *Liriomyza sativae* and honey and reared at a given temperature in a condition of 65–85% RH and 14L:10D photoperiod. There were eight to seventeen replicates.
[x] Mean ± standard error. Means within a column (in small letter) and within a row (in capital letter) followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by LSD test.

供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜者縮短 6.0 倍；雄蜂壽命僅在 10℃時，二種食物處理組間無顯著差異，在 15℃與 25℃時，雄蜂取食蜂蜜者壽命顯著較同時供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜者各延長 1.0 倍與 0.3 倍，但在 20℃與 30℃時，雄蜂取食蜂蜜者壽命卻顯著較同時供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜者各縮短 0.4 倍與 3.6 倍。另在 25℃下，雌、雄蜂壽命均以餵食蜂蜜者最長 (各為 35.9 日與 27.2 日)，供應寄主蔬菜斑潛蠅與蜂蜜者其次 (各為 21.9 日與 21.4 日)，僅餵食水 (各為 8.4 日與 3.9 日) 或不餵食者 (各為 3.7 日與 3.5 日) 最短，處理間呈顯著差異。

在 10–35℃定溫、每日僅以蜂蜜餵食，成蜂各日齡之存活率，隨溫度之上升而降低。雌蜂在 10、15、20 及 25℃時，其 65、78、23

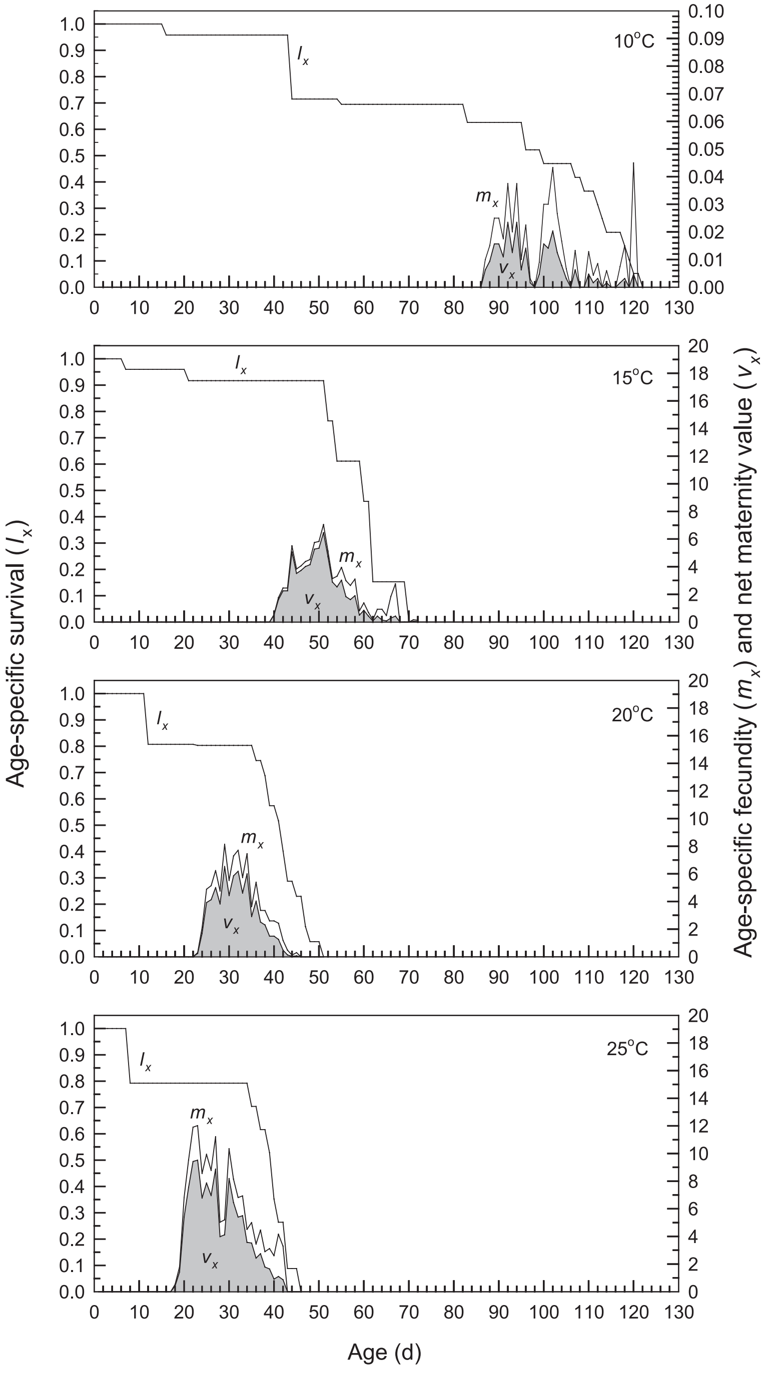


圖 2. 不同溫度下寄生南美斑潛蠅時臺潛蠅繭蜂之齡別存活率 (l_x)、繁殖率 (m_x) 及淨增殖值 ($v_x = l_x m_x$)。

Fig. 2. Age-specific survival rate (l_x), fecundity rate (m_x) and net maternity value ($v_x = l_x m_x$) of *Opius caricivorae* on *Liriomyza huidobrensis* at different temperatures.

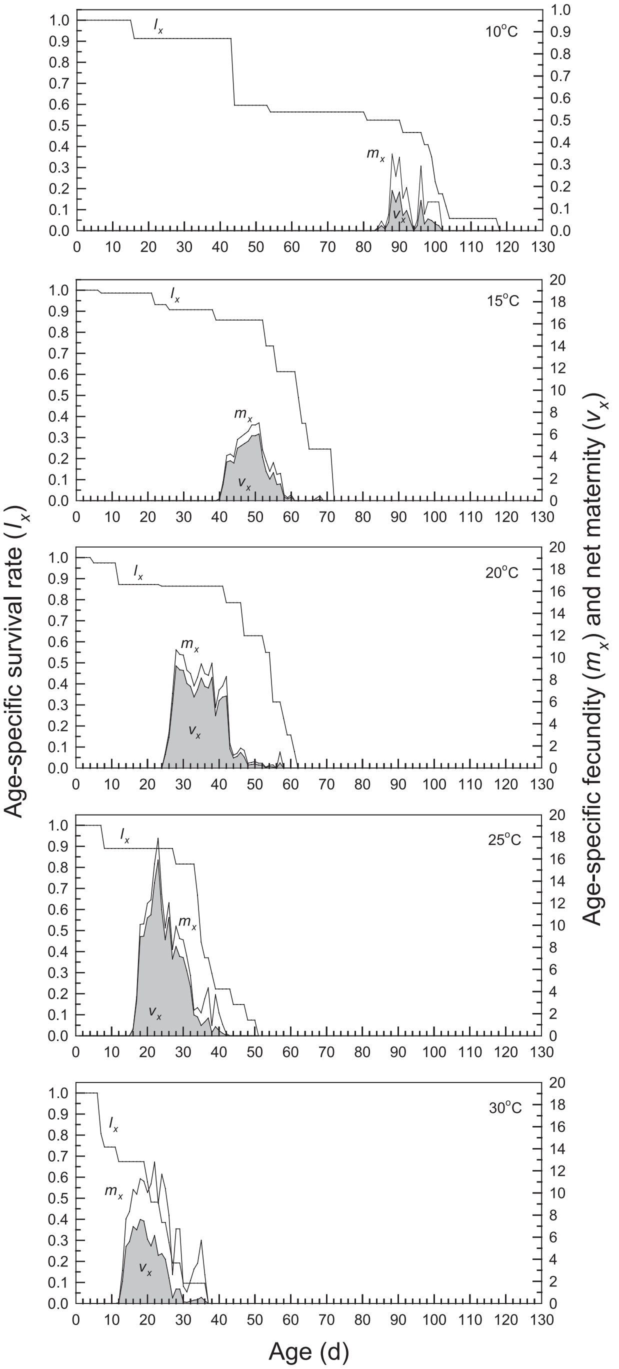


圖 3. 不同溫度下寄生蔬菜斑潛蠅時臺潛蠅繭蜂之齡別存活率 (l_x)、繁殖率 (m_x) 及淨增殖值 ($v_x = l_x m_x$)。

Fig. 3. Age-specific survival rate (l_x), fecundity rate (m_x) and net maternity value ($v_x = l_x m_x$) of *Opius caricivorae* on *Liriomyza sativae* at different temperatures.

及 20 日齡時之存活率，仍高達 88.8–94.5%，但在 30℃與 35℃時，其 1 日齡時之存活率，卻僅各達 50.0% 與 32.5%；雄蜂在 10、15、20 及 25℃時，其 37、29、13 及 18 日齡時之存活率，仍高達 86.0–89.6%，但在 30℃與 35℃時，其 1 日齡時之存活率，卻僅各達 53.8% 與 40% (圖 4)。

討　　論

Campbell *et al.* (1974) 認為寄生蜂為適應生存，其發育臨界低溫較寄主高，但這種現象亦影響寄生蜂與寄主之同律性。南美斑潛蠅、蔬菜斑潛蠅及非洲菊斑潛蠅卵至蛹期之發育臨界低溫各為 7.6、11.1 及 8.7℃，發育有效積溫各為 278、236 及 294 日度，發育適溫帶各為 15–25、15–30 及 20–35℃ (Chien & Ku 1996; Chien & Chang 2007, 2008a)。本試驗結果得知，寄主為南美斑潛蠅與蔬菜斑潛蠅時，臺潛蠅繭蜂卵至蛹期之發育臨界低溫各為 7.03℃與 7.61℃，發育有效積溫各為與 286 日度與 263 日度，發育適溫帶各為 10–25℃與 10–30℃ (表 3)。相較之下臺潛蠅繭蜂卵至蛹期之發育臨界

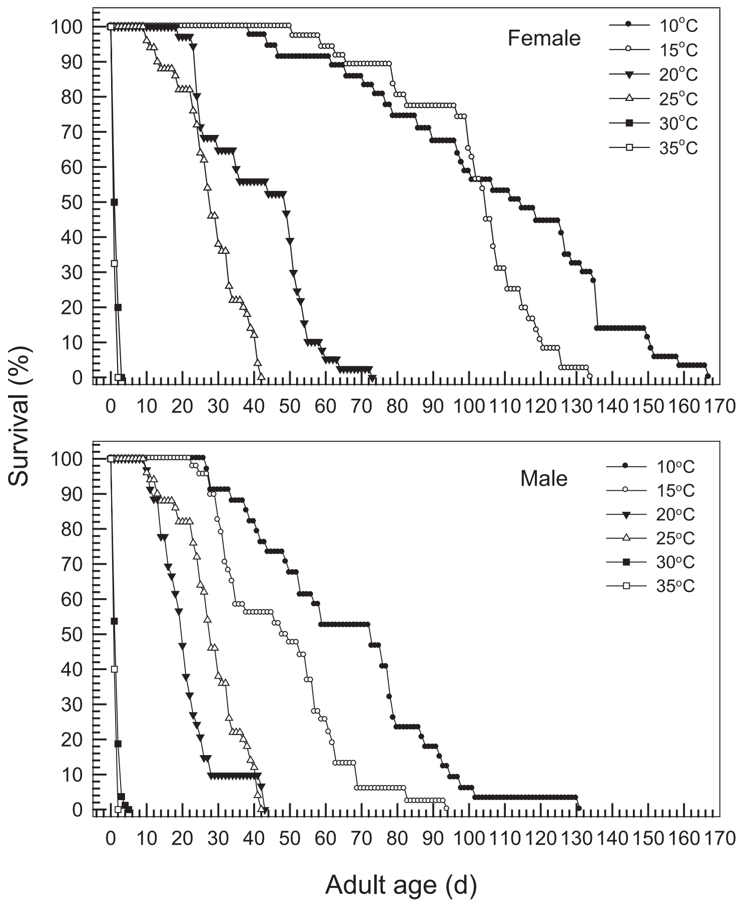


圖 4. 不同溫度下供應蜂蜜時臺潛蠅繭蜂之日存活率。

Fig. 4. Daily survival of adult *Opius caricivorae* fed with honey at different temperatures.

低溫、發育有效積溫及發育適溫帶均較寄主略低或近似。另參照中央氣象局 1897–1997 年間發布台北、新竹及台中地區 12 月至 2 月冬季之月平均最低溫為 11.7–14.3℃，台南與高雄 6 至 8 月夏季之月平均最高溫各為 32.0–32.6℃與 31.3–37.6℃，顯見台灣地區之低溫因均高於三種斑潛蠅與臺潛蠅釉蜂之發育臨界低溫，因此不影響三種斑潛蠅與臺潛蠅釉蜂之發生，因而寄主與寄生蜂間之同律性亦不受當地低溫之影響。

臺潛蠅釉蜂之接蜂方法、寄主植物、對寄主齡期偏好性、生活史、接蜂空間及寄生蜂與寄主之適當繁殖比例等已有報導 (Chien & Chang 2012a, 2012b)。本試驗證實因溫度對寄主南美斑潛蠅與蔬菜斑潛蠅發育之限制 (Chien & Chang 2007, 2008a)，致使寄主為南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅時，臺潛蠅釉蜂繁殖之適溫範圍各為 15–25℃與 15–30℃ (表 4)。Xu *et al.* (2007) 亦認為溫度與寄主密度是影響臺潛蠅釉蜂寄生的重要因子，在 17–33℃範圍內，臺潛蠅釉蜂寄生數與寄主蔬菜斑潛蠅蟲數 (5–60 隻) 間均呈 Holling 之第二型功能反應，其中以 25℃最適該蜂產卵。

寄生性膜翅目成蜂之食物可分寄主性食物 (host food) 與非寄主性食物 (non-host food) 二大類，前者主要係寄主體液，為寄生蜂卵形成時所必需之營養，而後者則多屬醣類食物，為寄生蜂活動、維生所必需之養分 (Chien *et al.* 1994)。本試驗結果得知，臺潛蠅釉蜂壽命除受溫度影響外，亦受其寄主蔬菜斑潛蠅體液與蜂蜜之影響 (表 6)。在 25℃定溫、餵食蜂蜜或同時供應蜂蜜與寄主者，雌蜂壽命較不餵食者各延長 8.7 倍與 4.9 倍、較餵水者各延長 3.3 倍與 1.6 倍，雄蜂壽命較不餵食者各延長 6.8 倍與 5.1 倍、較餵水者各延長 6.0 倍與 4.5 倍；在 10℃與 15℃低溫僅餵食蜂蜜時，雌蜂因無產卵活動之消耗，使得其壽命較有寄主存在時各延長 4.3 倍與 3.6 倍，而雄蜂卻僅各延長 0.2 倍與 1.0 倍；另在 30℃高溫該蜂卻可由取食寄主體液獲得之營養，使得雌、雄蜂壽命較無寄主存在時各延長 5.0 倍與 3.6 倍。因此建議當臺潛蠅釉蜂成蜂貯存、繁殖及田間應用時，均可考慮以蜂蜜供食，除可直接延長成蜂壽命外，間接亦促進其族群增長與致死寄主能力之增強。

一般生物防治時寄生蜂之內在增殖率常被要求需較寄主高或相當 (Huffaker *et al.* 1977)。南美斑潛蠅 (15–25℃) 與蔬菜斑潛蠅 (15–30℃) 族群之增長均係隨溫度之上升而增加，前者雌蠅每日內在增殖率 (r_m) 在 15、20、25 及 28℃時，各為 0.0747、0.1618、0.1999 及 -0.1665 (Chien & Chang 2008a)，後者雌蠅每日內在增殖率 (r_m) 在 15、20、25 及 30℃時，各為 0.0162、0.1163、0.1624 及 0.2358 (Chien & Chang 2007)。本試驗結果得知，寄主為南美斑潛蠅或蔬菜斑潛蠅時，臺潛蠅釉蜂族群之增長各在 10–25℃或 10–30℃時均係隨溫度之上升而增加 (表 5)；與寄主雌蠅之每日內在增殖率 (r_m) 相較，該雌蜂每日內在增殖率除在 20℃與 25℃時略小於寄主南美斑潛蠅、30℃時略小於寄主蔬菜斑潛蠅外，在其餘溫度下其值均較寄主高。因而自害蟲與寄生蜂間之族群增長，臺潛蠅釉蜂在 15℃時對南美斑潛蠅族群或 15、20 及 25℃時對蔬菜斑潛蠅族群確有強勢之抑制力，在 20℃與 25℃時對南美斑潛蠅族群或 30℃時對蔬菜斑潛蠅族群亦具有相當之抑制力，顯示臺潛蠅釉蜂因受限溫度對寄主發生之影響，各在 15–25℃為南美斑潛蠅之有效寄生蜂；在 15–30℃時為蔬菜斑潛蠅之有效寄生蜂。

引用文獻 (Literature cited)

Birch, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. J. Anim. Ecol. 17:15–26.

Campbell, A., B. D. Frazer, N. Gilbert, A. P. Gutierrez, and M. Mackauer. 1974. Temperature requirements of some aphids and their parasites. J. Appl. Ecol. 11:431–438.

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2007. Morphology, life history and life table of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). Formosan Entomol. 27:207–227. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2008a. Morphology, life history and life table of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Formosan Entomol. 28: 101–121. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2008b. Influence of temperature on the population increase and host-killing capability of *Chrysocharis pentheus* (Hymenoptera: Eulophidae). Formosan Entomol. 28:277–291. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2012a. Morphology and life history of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae). J. Taiwan Agric. Res. 61:144–157. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2012b. Effect of host and instar preference on the development and oviposition of the endoparasitoid *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae). J. Taiwan Agric. Res. 61:165–171. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Ku. 1996. Morphology, life history and reproductive ability of *Liriomyza trifolii*. J. Agric. Res. China 45:69–88. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Ku. 1998. The occurrence of *Liriomyza trifolii* and its parasitoids on fields of *Gerbera jamesonii*. Chinese J. Entomol. 18:187–197. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C. and S. C. Ku. 2001. Influence of temperature on both population increase and host-killing capability of *Hemiptarsenus varicornis* (Hymenoptera: Eulophidae). Formosan Entomol. 21:247–255. (in Chinese with English abstract)

Chien, C. C., Y. I. Chu, and S. C. Ku. 1994. Influence of food on longevity, egg production and population increase of the eulophid wasp, *Tamarixia radiata*. Plant Prot. Bull. 36:97–105. (in Chinese with English abstract)

Huffaker, C. B., R. F. Luck, and P. S. Messenger. 1977. The ecological basis of biological control. p.560–586. *in* the Proceedings of the 15th International Congress of Entomology. Entomological Society of America. Lanham.

Lin, F. C. and C. L. Wang. 1992. The occurrence of parasitoids of *Liriomyza trifolii* (Burgess) in Taiwan. Chinese J. Entomol. 12:247–257. (in Chinese with English abstract)

Xu, P., C. S. Yin, H. Yu, and X. X. Chen. 2007. Influence of temperature on functional response of *Opius caricivorae* to larvae of *Liriomyza sativae*. Chinese Bull. Entomol. 44:89–92. (in Chinese with English abstract)

Yin, C. S., X. X. Chen, F. Y. Lang, and J. H. He. 2003. Biological characteristics of adult *Opius caricivorae* Fischer, a parasitoid of *Liriomyza sativae* Blandchard. Acta Entomol. Sin. 46:505–511. (in Chinese with English abstract)

Yu, D. S., K. van Achterberg, and K. Horstmann. 2009. World Ichneumonoidea 2009, taxonomy, biology, morphology and distribution. Taxapad 2009. Scientific names for information management. Flash Disk. ISBN-13/EAN:9780973117226.

Effect of Host and Temperature on Population Increase and Parasitism of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae)[1]

Ching-Chin Chien[2,3] and Shu-Chen Chang[2]

Abstract

Chien, C. C. and S. C. Chang. 2012. Effect of host and temperature on population increase and parasitism of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae). J. Taiwan Agric. Res. 61:172–185.

The objective of this study was to determine effect of host and temperature on population increase and parasitism of the wasp, *Opius caricivorae* Fischer, using two species of hosts, *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) and *Liriomyza sativae* Blanchard, and six temperatures (10, 15, 20, 25, 30 and 35℃). The time required for the development of the wasp at different stages varied with host species. Using *L. huidobrensis* as host, the development period of wasps from egg to pupal stage was 82.6 days at 10℃ and 15.5 days at 25℃ and the survival rate was 62.6% at 10℃, 79.2–91.2% at 15℃ to 25℃ and 0% at 30℃. Using *L. sativae* as host, the development period of wasps from egg to pupal stage was 81.0 days at 10℃ and 11.4 days at 30℃ and the survival rate was 52.5% at 10℃, 85.8–89.0% at 15℃ to 25℃ and 67.4% at 30℃. The low temperature threshold for development of the wasp was 7.03 and 7.61℃ from egg to pupal stage on the hosts *L. huidobrensis* and *L. sativae*, respectively. The accumulated heat units required for development of the wasp was 40, 88, 36, 125 and 286 degree-days for egg, larval, prepupal, pupal and egg to pupal stage, respectively, on the host *L. huidobrensis*, whereas the accumulated heat units required for development of the wasp was 36, 83, 31, 112 and 263 degree-days for egg, larval, prepupal, pupal and egg to pupal stage, respectively, on the host *L. sativae*. The lifetime fertility of the wasp was 10, 156, 146 and 259 wasps at 10, 15, 20 and 25℃, respectively, on *L. huidobrensis* and was 18, 171, 257, 277 and 216 wasps at 10, 15, 20, 25 and 30℃, respectively, on *L. sativae*. Depending on *L. huidobrensis* and *L. sativae*, the intrinsic rate of increase (r_m) of female wasps was 0.1874 and 0.2223/day, net reproductive rate (R_o) was 116.413 and 152.113 female wasps/female, and mean generation time (T) was 25.38 and 22.60 days at 25℃, respectively. When adult wasps were provided with honey only without host from 10℃ to 35℃, the maximum longevity of the female and male wasps was 108.4 and 66.2 days at 10℃, respectively. For wasps provided daily with both hosts (*L. sativae*) and honey, the maximum longevity of female wasps was 34.3 days at 20℃, and male wasps was 53.6 days at 10℃. This study indicates that *O. caricivorae* was an effective parasitoid of *L. huidobrensis* and *L. sativae* when the temperature was at 15–25℃ and 15–30℃, respectively.

Key words: *Opius caricivorae*, *Liriomyza huidobrensis*, *Liriomyza sativae*, Temperature, Population increase.

---

1. Contribution No. 2659 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: March 14, 2012.

2. Respectively, Former Senior Entomologist and Assistant Entomologist, Applied Zoology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Corresponding author, e-mail: chien@tari.gov.tw; Fax: (04)23317600.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 61(3):186–195 (2012)

超甜玉米品種間遺傳距離與產量之相關性[1]

劉紹國[2] 謝光照[3,4]

摘 要

劉紹國、謝光照。2012。超甜玉米品種間遺傳距離與產量之相關性。台灣農業研究 61:186–195。

為瞭解台灣現有栽培超甜玉米品種農藝性狀之變異，選取坊間曾栽培之品種 14 個為材料，調查之性狀包括開花期、吐絲期、株高、稈徑、穗位高、總葉數、葉面積、含苞葉果穗重、去苞葉果穗重、穗長。試驗之數據經變方分析結果，顯示在品種間葉面積呈顯著差異外，其他性狀均達極顯著差異。由平均值之比較，顯示 14 個品種可區分為 11 個溫帶型品種及 3 個熱帶型品種，不同型間之農藝性狀平均值之表現皆呈現熱帶型大於溫帶型。由外表性狀之歐氏距離 (Euclidean distance)，以非加權成對分群法 (UPGMA) 進行集群分析 (cluster analysis)，結果得到 14 個品種的集群樹狀圖，供試品種被劃分二個類群。第 1 類群包括 PH 10、華珍及 PH 5 等 3 品種，屬於熱帶型品種，其中華珍與 PH 5 成另一亞群；PH 10 自成一亞群；第 2 類群包括金蜜、新吉士 600、好滋味、Honey 236、興農 3 號、蜜珍 2 號、興農 2 號、興農 123、神農 135、興農 506 及 Venus，屬於溫帶型品種，其中新吉士 600、好滋味及興農 2 號自成一亞群，屬於極早熟品種群；Honey 236 與金蜜、興農 3 號、蜜珍 2 號、興農 123、神農 135、興農 506 及 Venus 成另一亞群，屬於早熟品種群。去苞葉鮮果穗重與歐氏距離間之相關係數 r = 0.75 達極顯著正相關，表示利用有明顯差異外表形性狀之歐氏距離可初步推估品種間雜交種去苞葉鮮果穗重之表現，以作為玉米產量雜交育種上雜種優勢模式選擇之參考。

關鍵詞：超甜玉米、溫帶型、熱帶型、聚群分析。

前 言

雜種優勢是自然界的一種普遍現象，已成功的利用在玉米、水稻、小麥等作物和一些蔬菜育種。雜種優勢的利用首先需要篩選到強優勢的組合，常用的方法是進行大量的測交篩選，這是一個十分繁重的工作，費時又費力，且效率不高，因此研究雜種優勢群和強優勢配對模式的構建近年來是育種家們的研究重點，對拓寬種質資源，克服雜交組合配對的盲目性及提高育種效率具有重大的意義。一般研究顯

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2674 號。接受日期：101 年 4 月 3 日。
2. 行政院農業委員會農糧署蔬菜花卉科技正。台灣　南投縣。
3. 本所作物組研究員。台灣　台中市。
4. 通訊作者，電子郵件：x486045@tari.gov.tw；傳真機：(04)23399544。

示親本間的親緣關係較遠，雜種表現強優勢的可能性較大。因此，田間操作前可以依據遺傳差異性，將親本分為不同的類群，群間具有較大的遺傳差異，能組配出優勢較大的雜交種，而群內遺傳差異較小，獲得較強優勢的組合的頻率相對較少。因此將親本材料先分群具有簡化及提高強優勢組合選配的潛在效率。

早期美國生產玉米雜交種所用的自交系均為原始分離系。此後針對原始自交系的缺點進行改良，故在改良的自交系比重連年上升，到 1984 年約占 80%，但對雜交種的系譜追蹤發現，大部分來源於 Reid 和 Lancaster 兩大種質。這兩類種質雜交配對是優異的雜種優勢配對，群間組合具有較強的雜種優勢 (Hallauer & Malithano 1976)。如今在飼料玉米育種上已廣泛應用並形成了一定的模式群，如美國玉米帶的 Reid × Lancaster，熱帶地區的 Tuxpeno × Cuban flint，歐洲的早熟硬粒種 (flint) 自交系 × 玉米帶馬齒種 (dent) 自交系，中國的國外系與國內系的雜種優勢模式 (Teng *et al.* 2004)。遺傳差異是雜種優勢形成的基礎，因此將親本按遺傳差異分群就有可能配出強優勢的組合。目前已在玉米、小麥上有了一些研究，如根據系譜關係、形態形狀、DNA 分子標記等幾種來評價親本間的遺傳差異 (Pradhan *et al.* 1993)。

美國玉米帶的溫帶型種源之使用過於頻繁使其種源歧異度日趨狹窄 (Goodman 1965, 1984; Gerrish 1983; Smith *et al.* 1985)，自 1965 年起，多位學者主張利用熱帶型種源來改良，包括純熱帶型馬齒種 (Tuxpeno)、純熱帶型硬粒種 (CF)、半硬粒種 (CTF) 及混合種 (ETO) (Moll *et al.* 1965; Brown 1975; Hallauer 1978; Stuber 1978; Cohen & Galinat 1984; Albrecht & Dudley 1987; Crossa & Gardner 1987)。而中國大陸自 1970 年代至今亦利用 Suwan、Tuxpenom 及中國西南山區地方品種等熱帶型與溫帶型選系及典型溫帶型種質選系等雜交優勢模式群培育出不少的優良玉米群體 (如墨黃 9)、自交系及雜交種等，對中國玉米育種及生產產生影響 (Gao *et al.* 2005)。Soengas *et al.* (2003) 指出循歐洲硬粒種與美國馬齒種之雜種優勢模式育成許多雜交品種，但在歐洲硬粒種內亦可找出高產量及優良性狀的雜交組合，其中為 Northern spanish race 的 Gallego (GA) 與為 Northern spanish race 的 Basto/Enano Levantino (BA/EL)，以及 Basto/Enano Levantino 與屬於 Northern flint 的 Longfellow (LO) 其雜交組合表現極高的雜種優勢及平均產量。

台灣本島因耕作制度及夏作病蟲害猖獗，管理成本高，長久以秋冬為甜玉米主要栽培季節，種植品種以溫帶型為主。一般溫帶型適合較低溫的秋作及裡作栽培，品種如 Honey 236、金蜜、Venus、興農 2 號、蜜珍 2 號、神農 135、好滋味及新吉士 600 等；熱帶型則較適應高溫的春作及夏作栽培，如華珍、Pacific hybrid No. 5、Pacific hybrid No. 10 等。Betran *et al.* (2003) 研究指出，來自溫帶的育種材料有高產、早熟、莖稈質量佳；而來自熱帶與亞熱帶的種質對生物及非生物逆境具良好的抗逆性及品質良好的籽粒。但其對光週期敏感，收穫時籽粒含水量高，根系及莖稈弱，穗位偏高等缺點。台灣有關超甜玉米雜種優勢類群之研究，顯示熱帶型與溫帶型間產量及營養性狀一般組合力之表現有所不同，熱帶型品種正效應居多，溫帶型品種負效應居多；就甜度的效應而言，熱帶型品種為負效應居多，溫帶型品種以正效應居多，而熱帶型 × 熱帶型及溫帶型 × 熱帶型之雜交組合具有較高之產量雜種優勢 (Liu *et al.* 2009)。

玉米生長容易受到栽培環境的影響，在不同生長季節，常受氣象因素的變動而產生差異。台灣本島甜玉米種植情形，在春作及夏作易罹患毒素病及銹病，且螟蟲為害嚴重，較難管理且鮮穗產量較不穩定，熱帶型品種較能

適應且生長良好。而秋作及裡作氣候穩定，溫度較低適合甜玉米生長，病蟲害發生較少，溫帶型品種較適合栽培。同時玉米基因型與地點間有交感作用 (Geadelmann & Peterson 1978; Pollmer *et al.* 1979; Kang & Gorman 1989)。

故尋找適合的雜種優勢類群，建立雜種優勢利用之模式，是利用玉米雜種優勢，提高育種效果之有效措施。國內超甜玉米之栽培，主要以國外育成品種為大宗，在國內栽培及消費市場上佔有重要之角色，然而這些品種之遺傳特性的差異值得探討，期望能在栽培或育種方面提供有用的資訊，供玉米栽培研究及品種改良上之參考。

材料與方法

品種間農藝性狀差異性比較

本研究以坊間販售之 14 個商業品種為材料，其中 3 個熱帶型及 11 個溫帶型品種 (表 1) 材料。田間試驗於 2003 年 11 月於農業試驗所農場進行。田間試驗採逢機完全區集設計 (RCBD)，四重覆，行長 4.5 m，3 行區，行株距為 80 cm × 30 cm。公頃三要素肥料量為 N：P_2O_5：K_2O = 180 kg：90 kg：60 kg，基肥以台肥 39 號複合肥料 (N：P_2O_5：K_2O = 12：18：12) 每公頃施 500 kg，即基肥每公頃施氮素 60 kg，磷肥 90 kg 及鉀肥 60 kg。其餘之氮素 120 kg 以硫酸銨 (N = 21%) 於玉米長至齊膝期 (約 50–60 cm) 當追肥施用。其餘之田管理按實際需要進行之。

生育期間調查開花期、吐絲期、株高、稈徑、穗位高、總葉數、葉面積、含苞葉果穗重、去苞葉果穗重、穗長等。調查方法如下：開花期 (day to tasselings)：指播種日起至小區中 50% 植株達雄穗始花所需日數。吐絲期 (day to silkings)：指播種日起至小區中 50% 植株達雌穗開始吐絲所需日數。株高 (plant height)：於植株雄穗開花後，每小區逢機 10 株，由地面至雄穗頸節之平均高度，以 cm 表示。穗位高 (ear height)：於植株雌穗吐絲後，每小區逢機 10 株，由地面至最上位雌穗著生節位之平均高度，以 cm 表示。稈長徑 (stalk diameter)：於植株雌穗吐絲後，每小區逢機 10

表 1. 試驗材料品種特性表

Table 1. Type and source of varieties of super sweet maize were used as parents of mating in this study

Variety	Type	Company
Gilden Honey (GH)	Temperate	BO YOU CO., LTD.
Sin Ji Shih 600 (SIS 600)	Temperate	SINON CORPORATION
Hao Zih Wei (HZW)	Temperate	SINON CORPORATION
Honey 236	Temperate	SINON CORPORATION
Sinon 3	Temperate	SINON CORPORATION
Honey Jean NO. 2 (HJ 2)	Temperate	KNOWN-YOU SEED CO., LTD.
Sinon 2	Temperate	SINON CORPORATION
Sinon 123	Temperate	SINON CORPORATION
Hen Nong 135 (SN 135)	Temperate	FARMER SEED LTD.
Sinon 506	Temperate	SINON CORPORATION
Venus	Temperate	BO YOU CO., LTD.
Pacific Hybrids No. 5 (PH 5)	Tropical	TAIPEI NONG CI CO.
Bright Jean (BJ)	Tropical	KNOWN-YOU SEED CO., LTD.
Pacific Hybrids No. 10 (PH 10)	Tropical	TAIPEI NONG CI CO.

株，量取地面第一節中央的平均直徑，以 mm 表示。總葉數 (total leaf number)：於植株雄穗抽出後，選 10 株調查單株之總葉數，以 No./plant 表示。葉面積 (leaf area per plant)：由頂端往下數第 8 片葉的長度與最寬的乘積，再乘以 0.75 × 9.39 所獲得 cm^2 數值 (Pearce *et al.* 1975)。含苞葉果穗重 (fresh weight of ear with husk)：逢機選取乳熟期之 10 個果穗，稱其含苞葉果穗鮮重，以 g/ear 表示。去苞葉果穗重 (ear fresh weight)：上述逢機之 10 個果穗，去苞葉後稱其果穗鮮重，以 g/ear 表示。穗長 (ear length)：上述乳熟期之 10 個逢機果穗，量其整穗長度之平均值，以 cm 表示。

獲得之數據進行變方分析 (analysis of variance) 及最小顯著差異性測驗 (least significant different test, LSD test)，並估算品種間歐氏距離 (Euclidean distance)，及以非加權成對分群法 (unweighted pair-group method using the average approach, UPGMA) 進行品種間集群分析 (cluster analysis)。所有數據之分析，均使用 SAS 統計軟體 (SAS Institute 1993)。

品種間雜交種產量試驗

以坊間販售之 14 個商業品種為材料，其中 3 個熱帶型及 11 個溫帶型品種 (表 1) 相互進行半互交，計有 91 個正交組合。田間試驗於 2004 年 3 月於農業試驗所農場進行。試驗採逢機完全區集設計 (RCBD)，3 重複，行長 4.5 m，2 行區，行株距為 80 cm × 30 cm。三要素肥料量為 N：P_2O_5：K_2O = 180：90：60 kg/ha，基肥以台肥 39 號複合肥料 (N：P_2O_5：K_2O = 12：18：12) 施 500 kg/ha，即基肥施氮素 60 kg/ha，磷肥 90 kg/ha 及鉀肥 60 kg/ha。其餘之氮素 140 kg/ha 以硫酸銨 (N = 21%) 於玉米至齊膝期 (約 50–60 cm) 當追肥施用，其餘之田間管理按實際需要進行之。於乳熟期採收調查去苞葉果穗重。去苞葉果穗重 (fresh ear weight)：逢機取出乳熟期之 10 個去苞葉稱其果穗鮮重，以 g/ear 表示。最後以 SAS 統計軟體 (SAS Institute 1993) 進行品種間雜交種之去苞葉果穗鮮重與品種間之歐氏距離 (Euclidean distance) 的簡單直線相關性分析 (simple correlation analysis)。

結　　果

熱帶型玉米，較能適應高溫的春作及夏作栽培，耐熱，不耐冷，營養生長旺盛，生長期較長，鮮果穗產量高，苞葉量多，籽粒果皮厚，甜度稍低，抗病蟲性佳，栽培管理容易，食用口感較差。而溫帶型較能適合較低溫的秋作及裡作栽培生長期短，較早熟，苞葉少，不耐熱，易得病蟲害 (銹病、葉斑病及螟蟲)，糖度高，果皮薄，秋作鮮果穗產量高，食用品質佳。

14 個品種進行 10 個農藝性狀調查，數據經變方分析 (表 2) 顯示，所調查的農藝性狀在品種間平均值呈顯著或極顯著差異。品種農藝性狀之平均值表現詳述如下 (表 3)：不同品種之開花期介於 50–64.5 天之間，最早開花者為好滋味，最晚者為PH 10。新吉士 600、好滋味、興農2號、及興農 506，為溫帶型屬於早熟品種群。PH 10、華珍及 PH 5 熱帶型屬於晚熟品種群。不同品種之吐絲期介於 51.3–65 天之間，最早者為好滋味，最晚者為 PH 10。金蜜、新吉士 600、好滋味、興農 2 號及興農 506 為溫帶型，屬於早熟品種群。Honey 236、PH 10、華珍及 PH 5，屬於晚熟品種群不同品種之株高介於 111.5–192.5 cm 間，平均值為 137.4 cm，最低者為好滋味，最高者為PH 10。金蜜、新吉士 600、好滋味、蜜珍 2 號、興農 2 號、興農 123、神農 135、興農 506 及 Venus 為溫帶型且株高較矮。而 PH 10、華珍及 PH 5 為熱帶型，具有高大株型之特性。不同品種之穗位高介於 22.8–99.0 cm 之間，最低者為新吉士 600，最

表 2. 超甜玉米品種間農藝性狀變方分析

Table 2. Analysis of variance of ten traits in fourteen varieties of super sweet corn

		Mean squares									
Source	DF	Days to tasseling	Days to silking	Plant height	Ear height	Stalk diameter	Total leaf number	Leaf area per plant	Fresh weight of ear with husk	Ear fresh weight	Ear length
Block	3	0.06	0.06	44	24	2.29	0.4	9076**	414	389	0.29
Variety	13	63.60**	57.29**	3562**	2127**	25.32**	8.4**	82752*	15439**	3341**	3.87**
Error	39	0.43	0.37	32	19	1.13	0.3	1523	498	175	0.22

*, ** Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

表 3. 超甜玉米品種間農藝性狀之平均值

Table 3. Mean values of agronomy characters of fourteen super sweet varieties

Variety	Days to tasseling (days)	Days to silking (days)	Plant height (cm)	Ear height (cm)	Stalk diameter (mm)	Total leaf number (no./plant)	Leaf area per plant (cm^2)	Fresh weight of ear with husk (g/ear)	Ear fresh weight (g/ear)	Ear length (cm)
GH	55.3	56.3	120.3	35.5	21.6	11.0	2861	320.8	224.0	18.7
SJS 600	53.5	55.5	111.5	22.8	18.4	9.4	2005	324.7	243.6	17.2
HZW	50.0	51.3	100.3	27.3	17.6	10.1	2354	321.2	234.2	17.7
Honey 236	58.0	62.0	135.0	39.8	18.9	12.7	3345	289.8	214.1	18.4
Sinon 3	55.5	57.3	143.3	39.0	18.1	12.6	3228	312.9	204.4	18.3
HJ 2	57.5	59.5	127.8	39.0	20.0	11.9	3440	333.3	220.6	18.4
Sinon 2	51.5	53.8	108.8	24.0	17.7	11.1	2642	262.9	195.8	18.8
Sinon 123	57.0	58.0	122.0	37.0	20.0	10.2	2521	282.5	214.3	19.3
SN 135	57.5	59.5	131.5	43.5	19.4	12.5	3206	288.2	220.7	18.4
Sinon 506	54.5	55.5	126.5	32.0	19.3	10.1	2132	252.9	199.1	16.9
Venus	58.0	59.8	131.8	42.3	18.7	12.7	2535	309.6	223.6	19.0
Temperate average	55.3	57.1	123.5	34.7	19.1	11.3	2752	299.9	217.7	18.3
PH 10	64.5	65.0	192.5	99.0	24.3	13.4	7263	464.4	272.4	20.6
BJ	61.8	62.0	186.3	86.0	25.4	13.9	5234	405.0	276.3	19.5
PH 5	62.0	64.0	186.8	70.3	23.5	13.5	4626	440.4	303.2	20.0
Tropical average	62.8	63.7	188.5	85.1	24.4	13.6	5708	436.6	283.9	20.0
$LSD_{(0.05)}$ [z]	0.9	0.9	8.2	6.4	1.5	0.8	558	31.9	18.9	0.7

[z] $LSD_{(0.05)}$: value of least significant difference test at 5% level.

高者為 PH 10。新吉士 600、好滋味、興農 2 號及興農 506 為溫帶型，具有較低之穗位。PH 10、華珍及 PH 5 為熱帶型，具有較高之穗位高。

不同品種之稈徑介於 17.6–25.4 mm 之間，平均值為 20.2 mm，最細者為好滋味，最高者為華珍。溫帶型品種中新吉士 600、好滋味、Honey 236、興農 3 號、興農 2 號、及 Venus 其稈徑較細。而金蜜、蜜珍 2 號、興農 123、PH 10、華珍及 PH 5 則具有較粗之莖稈。一般溫帶型品種稈徑較熱帶型品種細小。

不同品種之總葉數介於 9.4–13.9 間，平均值為 11.7，最少者為新吉士 600，最高者為華珍。溫帶型品種新吉士 600、好滋味、興農 123 及興農 506 具有較少之總葉數。而溫帶型的 Honey 236、興農 3 號、神農 135、Venus 與

熱帶型品種 PH 10、華珍及 PH 5 則有較多之總葉數。一般溫帶型品種之總葉數較熱帶型品種少。不同品種之單株葉面積介於 2005–7263 cm^2 間，平均值為 3385.1 cm^2。溫帶型品種金蜜、新吉士 600、好滋味、興農 2 號、興農 123、興農 506 及 Venus 具有較少單株葉面積。而熱帶型品種 PH 10、華珍及 PH 5 則具有較大之單株葉面積。

不同品種含苞葉果穗重介於 252.9–464.4 g/ear 間，最低者為興農 506，最高者為 PH 10，平均值為 329.1 g/ear。溫帶型品種 Honey 236、興農 2 號、興農 123、神農 135 及興農 506 之含苞葉果穗重較輕。熱帶型品種 PH 10、華珍及 PH 5 則有較高之含苞葉果穗重。不同品種之去苞葉果穗重介於 195.8–303.2 g/ear 間，溫帶型品種興農 2 號及興農 506 之去苞葉果穗重表現較輕，為較低產之品種；而 PH 10、華珍及 PH 5 等熱帶型品種則有較高的去苞葉果穗重，屬於較高產的品種群。不同品種之穗長介於 16.9–20.6 cm 間，平均值為 18.7 cm，興農 506 最短，最長者為 PH 10。溫帶型品種新吉士 600、好滋味及興農 506 為較短小型。溫帶型品種興農 123、Venus 與熱帶型品種 PH 10、華珍及 PH 5 則具有較長之穗型。

上述 14 個品種可區分為 11 個溫帶型品種及 3 個熱帶型品種，不同型間農藝性狀平均值之表現，皆呈現熱帶型大於溫帶型。依據品種間歐氏距離之遺傳相似係數矩陣，以非加權成對分群法 (UPGMA) 進行集群分析，得到 14 個品種的集群樹狀圖 (圖 1)，供試品種被劃分

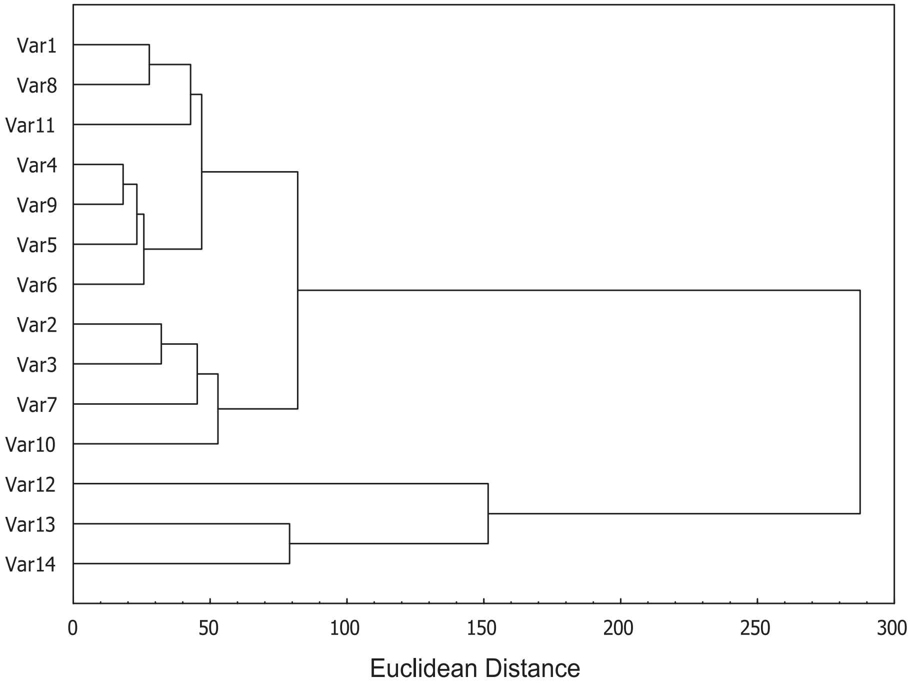


圖 1. 14 個超甜玉米品種根據 10 個外表性狀之歐氏距離利用 UPGMA 進行集群分析所得之樹狀圖。

Fig. 1. Grouping result of 14 of super sweet corn by their Euclidean distance of 10 phenotypic characters according to the result of cluster analysis by UPGMA method. These varieties were: Var1: GH; Var2: SJS600; Var3: HZW; Var4: Honey 236; Var5: Sinon 3; Var6: HJ 2; Var7: Sinon 2; Var8: Sinon 123; Var9: SN 135; Var10: Sinon 506; Var11: Venus; Var12: PH 10; Var13: BJ, and Var14: PH 5.

2 個類群。第 1 類群包括 PH 10、華珍及 PH 5 等 3 品種，屬於熱帶型品種。第 2 類群包括金蜜、新吉士 600、好滋味、Honey 236、興農 3 號、蜜珍 2 號、興農 2 號、興農 123、神農 135、興農 506 及 Venus，屬於溫帶型品種。第 1 類群可分兩個亞群，PH 10 自成一亞群，華珍與 PH 5 成另一亞群；第 2 類群亦分為兩個亞群，其中新吉士 600、好滋味及興農 2 號自成一亞群，屬於極早熟品種群；Honey 236 與金蜜、興農 3 號、蜜珍 2 號、興農 123、神農 135、興農 506 及 Venus 成另一亞群，屬於早熟品種群。

品種間雜交組合之去苞葉果穗重變異介於 155–270 g/ear 間 (表 4)，最低者為興農 123 × Venus，最高者為 Venus × PH 5。平均值為 205 g/ear。去苞葉果穗重介於 250 g/ear 至 270 g/ear 間者有 Honey 236 × PH 5 等 3 個組合。低於 170 g/ear 者有金蜜 × 新吉士 600 等 8 個組合。去苞葉鮮果穗重與歐氏距離間之相關係數 r = 0.75 達極顯著正相關 (圖 2)，顯示品種間之歐氏距離與去苞葉鮮果穗重間有密切相關，利用明顯差異之外表型性狀之歐氏距離可初步推估品種間產量雜種優勢之表現。

討　　論

玉米原產地為墨西哥等中美洲國家，後來傳至世界各地，現在從北緯 45 度至 48 度間以及南緯 35 度至 40 度間都有其分佈。依照玉米

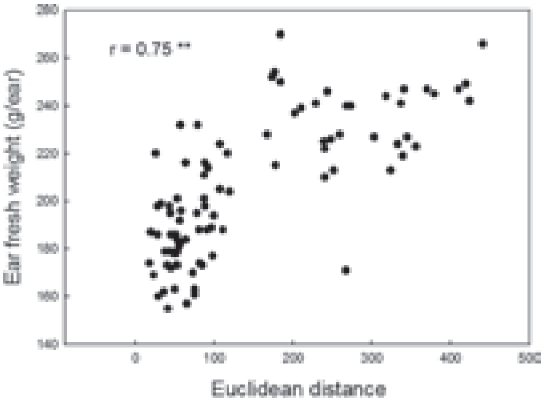


圖 2. 超甜玉米品種間雜交種鮮果穗重與外表型歐氏距離間之相關性。

Fig. 2. Correlation between ear fresh weight and Euclidean distance in hybrid varieties of super sweet corn.

表 4. 超甜玉米品種間雜交種之去苞葉果穗重 (上三角) 與品種間歐氏距離 (下三角)

Table 4. Ear fresh weight (upper triangle) and Euclidean distance (lower triangle) of hybrids of super sweet corn from different crosses

Variety	GH	SJS 600	HZW	Honey 236	Sinon 3	HJ 2	Sinon 2	Sinon 123	SN 135	Sinon 506	Venus	PH 10	BJ	PH 5
GH		161	192	186	195	179	216	198	178	173	172	247	171	237
SJS 600	75		199	188	224	205	173	170	220	232	194	266	241	240
HZW	56	32		214	216	201	173	196	177	186	179	249	244	213
Honey 236	45	111	92		187	169	211	184	174	195	179	247	210	254
Sinon 3	44	107	88	19		220	173	201	186	163	198	227	246	215
HJ 2	38	107	87	23	26		198	181	160	174	163	219	225	252
Sinon 2	63	51	40	87	85	88		184	189	178	188	242	213	228
Sinon 123	28	73	58	53	53	55	63		173	182	155	245	240	228
SN135	49	117	98	18	28	29	97	53		188	162	224	241	239
Sinon 506	52	57	51	78	75	82	51	56	81		157	247	227	222
Venus	45	99	53	44	43	50	91	41	36	65		223	226	270
PH 10	370	441	419	341	345	339	424	379	333	410	356		204	250
BJ	267	337	318	240	243	239	324	274	229	303	248	119		232
PH 5	202	268	251	177	178	174	259	167	210	240	184	184	79	

對不同氣候與土壤環境的適應性，呈溫帶型與熱帶型之分。溫帶型玉米分佈地帶如美國玉米帶、加拿大、北歐、西歐、日本、中國大陸華北、西北、東北及長江流域，熱帶型玉米則分佈如中南美洲、非洲及東南亞等地區。兩型相較，溫帶型玉米生長期較短、株高矮、雄穗小，經濟系數高，生產力主要受供源影響，在暖溫帶有時則受積儲的影響；而暖熱帶型玉米苗勢強、生長期長，植株高大、生物產量高，籽粒脫水快，不易脫粒及脫苞葉，根係發達、莖桿強壯，抗逆性與抗旱性強、抗病蟲與雜草性高，也耐貧瘠與潮濕，但經濟系數低，生產力主要受積儲的影響。就生物學特性而言，熱帶型較溫帶型的植株高、枝葉茂、分蘗多、穗大、莖稈韌、抗倒伏、氣根多、雄穗發達、花粉多。

本試驗結果顯示利用 10 個農藝性狀，將 14 個品種分為兩大類群，熱帶型皆被列入同一群屬第一類群，另溫帶型則歸為第二類群，顯示溫帶型與熱帶型在農藝性狀上有明顯差異性存在，若依營養性狀而言，如株高、穗位高、稈長徑、總葉數及葉面積，熱帶型大於溫帶型。生殖生長如開花期與吐絲期亦為熱帶型大於溫帶型。產量方面，如含苞葉果穗重及不苞葉果穗重也呈現熱帶型重於溫帶型，表現出典型之熱帶型與溫帶型特色與差別。而屬熱帶型的第一類群 3 個品種中，華珍與 PH 5 成另一亞群；PH 10 自成一亞群，PH 10 在開花期、吐絲期、穗位高、葉面積、含苞葉重及穗長等性狀明顯大於華珍與 PH 5，屬於晚熟且營養性狀高之品種。屬溫帶型的第二類群 11 個品種中，亦可分為兩個亞群，其中新吉士 600、好滋味及興農 2 號自成一亞群，屬極早熟且營養生長量少之品種。Honey 236 與金蜜、興農 3 號、蜜珍 2 號、興農 123、神農 135、興農 506 及 Venus 成另一亞群，屬早熟且營養生長量中等之品種。可見除類群間的差異外，類群內亦仍存有一定的差異性。

基本上熱帶型玉米種質其優良特性對溫帶型玉米品種改良上的助益有 (1) 增加溫帶型玉米種質遺傳多樣性及提高組合力；(2) 改善溫帶型玉米種質抗逆性及葉片常綠性；(3) 可用建立新的雜種優勢模式群及雜種優勢模式 (Liu *et al.* 2000)。綜合而言，本試驗甜玉米呈現溫帶與熱帶型不同的分群，而同一群間內亦顯現有一定的差異存在，可見其遺傳種質提供育種上雜種優模式群之利用上有一定的參考價值。同時外表性狀之歐式距離與去苞葉鮮果穗重間有直線相關，可用於初步推估品種間雜交種產量之表現，並有效的減少雜交組合配對數量及提升育種效率。

引用文獻 (Literature cited)

Albrecht, B. and J. W. Dudley. 1987. Evaluation of four maize populations containing different proportions of exotic germplasm. Crop Sci. 27:480–486.

Betran, F. J., J. M. Ribaut, D. Beck, and D. G. de Leon. 2003. Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and non-stress environments. Crop Sci. 43:797–806.

Brown, W. L. 1975. A broader germplasm base in corn and sorghum. Proc. Annu. Corn Sorghum Res. Conf. 30:81–89.

Cohen, J. I. and W. C. Galinat. 1984. Potential use of alien germplasm for maize improvement. Crop Sci. 24:1011–1015.

Crossa, J. and C. O. Gardner. 1987. Introgression of an exotic germplasm for improving an adapted maize population. Crop Sci. 27:187–190.

Gao, X., S. W. Luo, J. H. Perng, S. S. Tsaur, J. H. Chern, M. N. Pan, Y. F. Yun, and T. H. Chern. 2005. A primary analysis of breeding and production on the tropics (subtropics) germplasm such as tuxpeno and suwan to chinese maize. J. Maize Sci. 13:40–43 (in Chinese with English abstract)

Geadelmann, J. L. and R. H. Peterson. 1978. Effects of two yield component selection procedures on maize. Crop Sci. 18:387–390.

Gerrish, E. E. 1983. Indications from a diallel study for inter-racial maize hybridization in the Corn Belt. Crop Sci. 23:1082–1084.

Goodman, M. M. 1965. Estimates of genetic variance in adapted and exotic populations of maize. Crop Sci. 5:87–90.

Goodman, M. M. 1984. An evaluation and critique of current germplasm programs. p.207–227. *in*: Conservation and Utilization of Exotic Germplasm to Improve Varieties. Rept. 1983 Plant Breed. Res. Forum. Pioneer Hi-Bred Intl. Inc. Des Moines.

Hallauer, A. R. 1978. Potential of exotic germplasm for maize improvement. p.229–247. *in*: Maize Breeding and Genetics. (Walden, D. B., ed.) Wiley. New York. 812 pp.

Hallauer, A. R. and D. Malithano. 1976. Evaluation of maize varieties for their potential as breeding populations. Euphytica 25:117–127.

Kang, M. S. and D. P. Gorman. 1989. Genotype × environment interaction in maize. Agron. J. 81:662–664.

Liu, J. S., F. J. Jang, J. D. Menq, J. Harn, C. F. Quo, L. M. Uang, and D. Y. Fan. 2000. The progression of utilization on the researches of subtropics germplasm. Shandong Agric. Sci. 4:49–51. (in Chinese with English abstract)

Liu, S. K., G. J. Shieh, and F. S. Thseng. 2009. Studies on heterotic patterns of super sweet corn varieties in Taiwan. J. Taiwan Agric. Res. 58:31–34. (in Chinese with English abstract)

Moll, R. H., J. H. Lonnquist, J. V. Fortuno, and E. C. Johnson. 1965. The relation of heterosis and genetic divergence in maize. Genetics 52:139–144.

Pearce, R. B., J. J. Mock, and T. B. Baily. 1975. Rapid method for estimating leaf area per plant in maize. Crop Sci. 15:691–694.

Pollmer, W. G., D. Kleim, and B. S. Dhillon. 1979. Differences in reciprocal crosses of maize inbred lines diveres for protein content. Euphytica 28: 325–328.

Pradhan, A. K., Y. S. Sodhi, A. Mukhopadhyay, and D. Pental. 1993. Heterosis breeding in Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern & Coss): analysis of component characters contributing to heterosis for yield. Euphytica 69:219–229.

SAS Institute. 1993. SAS/STAT User's Guide, Version 6. 4th ed. SAS Institute. Cary. 1848 pp.

Smith, J. S. C., M. M. Goodman, and C. W. Stuber. 1985. Genetic variability within U.S. maize germplasm. I. Historically important lines. Crop Sci. 25:550–555.

Soengas, P., B. Ordás, R. A. Malvar, P. Revilla, and A. Ordás. 2003. Heterotic patterns among flint maize populations. Crop Sci. 43:884–849.

Stuber, C. W. 1978. Exotic sources for broadening genetic diversity in corn breeding programs. Proc. 30th Annu. Corn Sorghum Res. Conf. 33:34–37.

Teng, W. T., J. S. Sheng, Y. H. Chen, X. H. Liu, X. Q. Jing, F. J. Zhang, and J. S. Li. 2004. Analysis of maize heterotic groups and patterns during the past decade of China. Acta Agric. Sin. 37:1804–1811. (in Chinese with English abstract)

Relation between Genetic Distance and Yield in Different Varieties of Super Sweet Corn[1]

Shao-Kuo Liu[2] and Guang-Jauh Shieh[3,4]

Abstract

Liu, S. K. and G. J. Shieh. 2012. Relation between genetic distance and yield in different varieties of super sweet corn. J. Taiwan Agric. Res. 61:186–195.

A field study was conducted to determine relationship between agronomic traits and yields in different varieties of super sweet corn in Taiwan. Fourteen varieties of super sweet corn and a half-diallel set (14 × 14) of crossing hybrids from tropical type and temperate types were planted in the field to compare ten agronomic traits, including days to tasseling, days to silking, plant height, ear height, stalk diameter, number of leaves per plant, leaf area per plant, ear weight with husk, and ear fresh weight and ear length. Result of ANOVA showed that leaf area among different varieties had significant difference, and other traits also had high significant difference among fourteen varieties. When the ten agronomic traits were compared, mean of the phenotypic characters were significantly lower in the eleven varietes belonging to temperate types than in the three varieties belonging to tropical types. Results of cluster analysis by UPGMA method showed that the fourteen varieties were classified into two groups. The first group included three tropical types varieties. PH 10, Bright Jean and PH 5, with Bright Jean and PH 5 as first subgroup, and PH 10 as second subgroup. The second group included eleven temperate type varieties. Golden Honey, Sin Ji Shih 600, Hao Zih Wei, Honey 236, Sinon No. 3, Honey Jean No. 2, Sinon No. 2, Sinon No. 123, Shen Nong 135, Sinon No. 506 and Venus. The second group was further divided into two subgroup, the varieties Sin Ji Shih 600, Hao Zih Wei and Sinon No. 2 belonged tothefirst with very early maturity, and the varieties Golden Honey, Honey 236, Sinon No. 3, Honey Jean No. 2, Sinon No. 123, Shen Nong 135, Sinon No. 506 and Venus belonged to the second subgroup with early maturity. Correlation coefficient between ear fresh weight and Euclidean distance was significant (r = 0.75). The results suggest that Euclidean distance of the agronomic traits is a useful tool to evaluation of performance of ear fresh weight in hybrids of super sweet corn.

Key words: Super sweet corn, Tropical type, Temperate type, Genetic distance.

---

1. Contribution No. 2674 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: April 3, 2012.
2. Specillist, Vegetable and Flower Section, Agricultural and Food Agency, Council of Agriculture, Nantou, Taiwan, ROC.
3. Associate Agronomist, Crop Science Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: x486045@tari.gov.tw; Fax: (04)23399544.

台灣黃蘗細胞懸浮培養生產小蘗鹼之研究 [1]

劉季函 [2] 賴瑞聲 [3] 李宏謨 [4] 吳明哲 [3,5]

摘　要

劉季函、賴瑞聲、李宏謨、吳明哲。2012。台灣黃蘗細胞懸浮培養生產小蘗鹼之研究。台灣農業研究 61:196–208。

黃蘗藥材來源為芸香科 (Rutaceae) 黃蘗屬 (*Phellodendron* spp.) 植物之樹皮，具有清熱解毒、消炎止痢、滋陰通便的功效，黃蘗樹皮含有小蘗鹼 (berberine)，為西藥製劑的重要原料，廣泛被使用於治療腸胃炎、細菌性痢疾等。台灣黃蘗 [*Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* (Hayata & Kanehira)] 為台灣特有種，小蘗鹼含量高，是黃蘗藥材優異來源，但須生長 6–8 年才可利用，且原生地已過度採集，因此，建立台灣黃蘗懸浮細胞培養系統，是生產小蘗鹼的另一選擇。本研究以台灣黃蘗幼株為材料，進行癒合組織誘導，並探討建立台灣黃蘗細胞懸浮培養之條件，並以小蘗鹼含量為評估指標。結果顯示癒合組織誘導以葉柄為最佳培植體，經暗處理培養於 0.5 mg/L 2,4-D、1.0 mg/L BA 之 MS 基礎鹽類培養基時，可於 28 天後誘導出癒合組織 (callus)，其型態為淡黃色、質地鬆軟、較鬆散，適合作為懸浮細胞培養來源。懸浮細胞培養以 WPM 培養基添加 0.5 mg/L 2,4-D 及 1.0 mg/L BA 為基礎培養基，於黑暗中以 100 rpm 轉速震盪培養，生長 20 天時細胞生長量可達 9 倍，但癒合組織及前述懸浮細胞培養經 75% 乙醇萃取及 HPLC 檢測分析皆無小蘗鹼含量。本研究於懸浮細胞培養第 18 天添加 2 mg/L BA 及 6 mg/L NAA 可順利誘導小蘗鹼生合成，於第 28 天時懸浮細胞之小蘗鹼含量為 188.68 μg/g dw，本研究可作為台灣黃蘗懸浮細胞培養量產小蘗鹼之基礎，懸浮細胞如以不同生產調節劑處理，也可能誘導出棕櫚鹼及黃蘗鹼等其他藥用成分，具有製藥應用潛力。

關鍵詞：台灣黃蘗、癒合組織、懸浮細胞、小蘗鹼、高效液相層析。

前　言

黃蘗習稱黃柏，為傳統中藥材，常用於健胃整腸劑，治腹痛、消化不良、細菌性腸炎、痢疾、結核性腹瀉，也用為解熱劑、外用消炎劑及洗眼劑 (Tu *et al.* 1995; Chiu & Chang 1999)，藥材主要來源為芸香科 (Rutaceae) 黃

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2671 號。接受日期：101 年 6 月 5 日。
2. 中臺科技大學藥物科技研究所研究生。台灣　台中市。
3. 本所生物技術組助理研究員、研究員兼組長。台灣　台中市。
4. 中臺科技大學校長。台灣　台中市。
5. 通訊作者，電子郵件：wu@tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

蘗屬 (*Phellodendron* spp.) 植物之樹皮，供藥材使用有 5 種，包括黃蘗 (*Phellodendron wislonii* Hayata et Kanehira *amurense* Rupr)、黃皮樹 (*Phellodendron chinense* Schneid)、日本黃蘗 (*Phellodendron japonica*)、川黃蘗 (*Phellodendron sacholiinense*) 以及台灣黃蘗 [*Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* (Hayata & Kanehira)] (Kan 1986; Liao 2000)，其中黃蘗俗稱關黃蘗，大陸習稱黃柏；黃皮樹俗稱川黃蘗，市售黃蘗藥材以黃蘗 (*P. wislonii*) 來源為主。

黃蘗樹皮含多種生物鹼，包括小蘗鹼 (berberine)、棕櫚鹼 (palmatine)、木蘭花鹼 (magnoflorine)、黃蘗鹼 (phellodenrine) 及藥根鹼 (jatorrhizine) 等，另含無氮素之結晶性物質，如黃蘗酮 (obacunone)，以及脂肪、固醇類化合物等 (Chiu & Chang 1999)，其中小蘗鹼也是西藥氯化小蘗鹼及硫酸鹽小蘗鹼製劑的重要原料，具有抗發炎、抑制細菌、抗癌症等作用，因此一般以小蘗鹼含量來做為評價黃蘗品種優劣的標準，在多種黃蘗藥材來源中，以台灣黃蘗 (又稱本黃蘗) 品質最好，小蘗鹼含量高出其他種約 2.5 倍之多，因此台灣黃蘗頗受國外製藥廠的喜好 (Tu *et al.* 1995; Chiu & Chang 1999)。

台灣黃蘗為台灣特有種，主要分佈於台灣東部、北部與中部海拔 1800–2600 m 間之溫帶林內，如太平山、阿里山、合歡山等地，因市場需求而過度採集，野外已甚為少見，屬於保育類木本植物，又每年製藥工業所需的小蘗鹼類大部分仰賴進口，浪費不少外匯，為提倡森林副產物的開發利用，並且供應中藥藥材、製藥工業原料，台灣黃蘗造林及人工培育具有發展潛力，然而，台灣黃蘗利用部位為樹皮，從栽培至可供藥用需費時 6–8 年，是發展瓶頸之一，利用組織培養生產小蘗鹼等次級代謝物是另一選項，可減輕由野外棲地採集野生植物的壓力 (AboEl-Nil 1997)。

運用植物組織培養來產生次級代謝產物，被認為是一種可大量生產之技術，目前常用的培植體包括毛狀根、癒合組織 (callus) 及懸浮細胞 (cell suspension) 培養，培養物及生產的標的物質具有一致性。懸浮細胞生長速度比癒合組織快，細胞與培養基的接觸面比較均勻，細胞大小及生理代謝狀況比較一致，可用於培養大量之植物細胞，極適合用來進行探討細胞生理代謝及生產次級代謝物，生長周期在人工控制條件下，可採用科學方法提高產量與品質 (Tsay 1984; Su *et al.* 1990)，相關控制因子包括 (1) 物理因子，如光照、溫度、pH 值及通氣等；(2) 生物因子，如遺傳基因、細胞株篩選及組織細胞的年齡；(3) 化學因子，如無機鹽類、醣類、賀爾蒙及生長調節劑等。

利用組織培養生產小蘗鹼，一般多以草本植物如東亞唐松草 (*Thalictrum minus*) (Nakagawa *et al.* 1984; Nakagawa *et al.* 1986)、日本黃連 (*Coptis japonica*) 及洋小蘗 (*Berberis aquifolium*) 或其同屬植物為主；培養基則以 LS 為基礎鹽類，添加 100 μM NAA 及 5–10 μM BA，轉速為 100 rpm，並於 25℃之暗環境下，進行細胞懸浮培養，經 2–3 週後，可得 400–800 mg/L 小蘗鹼 (Ho *et al.* 2005)。Tai (1996) 指出台灣黃蘗癒合組織之誘導以葉柄最佳，於 MS 培養基中添加 2 mg/L 2,4-D、1 mg/L BA、3% sucrose 及 1.0% agar (Difco Bacto agar)，pH 5.7 ± 0.1，培養於 25 ± 1℃、相對溼度 70%、暗處理之環境中，培養約 28 天可誘導出癒合組織，而台灣黃蘗癒合組織之繼代培養可使用 WPM 基本鹽類、添加 2.0 mg/L 2,4-D、1 mg/L BA、1000 mg/L casein hydrolysate、10% coconut milk、3% sucrose 及 1% agar，pH 5.2，並每 10–20 天繼代一次，然而，台灣黃蘗細胞懸浮培養，則無相關之具體研究報告。Tzeng (2006) 以細葉十大功勞懸浮細胞進行小蘗鹼生產研究，以 MS 基本鹽類添加 0.5 mg/L 2,4-D 及 3% sucrose，pH

值 5.2 之液態培養基，於 100 rpm 轉速之條件下培養，培養第 32 天可達 10.6 倍細胞體積增殖量，小蘗鹼乾重含量為 158.33 μg/g。

基於台灣黃蘗具有優良黃蘗藥材特色，小蘗鹼含量優於其他黃蘗物種，並具有黃蘗酮等潛力活性成分，因此本試驗擬以台灣黃蘗為材料進行組織培養研究，以癒合組織誘導基礎，再以生產小蘗鹼為標的，進行台灣黃蘗懸浮細胞培養系統建立，並探討培養基種類及生長調節劑等條件對懸浮細胞生長及小蘗鹼生合成的影響，期能建立台灣黃蘗細胞培養系統，據以提高台灣黃蘗懸浮細胞之小蘗鹼產量，可作為小蘗鹼製藥產業的來源。

材料與方法

材料來源

本研究使用之台灣黃蘗 [*P. amurense* Rupr. *var. wilsonii* (Hayata et Kanehira)] 種子，是由林業試驗所自宜蘭太平山區採集，並經預措處理後提供發芽種子，種植於農業試驗所溫室內，以生長 2 個月後之新生苗作為材料來源，供後續無菌苗培養、癒合組織誘導及細胞懸浮培養之建立。

培植體消毒處理

莖段或葉片以清水洗淨後，用 75% 酒精擦拭作表面消毒，再以 0.6% NaOCl (每 50 mL 加 Tween 20 一滴)，手搖震盪方式消毒 10 分鐘後，用無菌水清洗三次後備用。

台灣黃蘗芽體無菌培養

取台灣黃蘗新生植株莖頂以下 3 cm 處之莖段，經消毒處理後分切為 1.5 cm 莖段。以 MS 培養基添加 3% 蔗糖為基本配方，先用 1 N NaOH 或 HCl 將 pH 值調至 5.7 ± 0.1，再加入 1.0% 洋菜 (Difco Bacto agar) 加熱溶解，每一試管 (25 mm × 120 mm；Pyrex，日本) 注入 10 mL 培養基，以 121℃、1.21 kg/cm² 高壓滅菌 15 分鐘後，擺成斜面冷卻後進行莖段之固態培養，置於 25 ± 1℃、38 μmol/m^2/s 光照 16 小時條件下進行無菌芽體誘導。

台灣黃蘗癒合組織之誘導

取嫩葉經消毒後分為中肋、葉片及葉柄培植體，分別切取大小各 0.8 cm 左右，進行癒合組織之誘導。以 MS 無機鹽培養基添加 1.0 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D，pH 值 5.7 ± 0.1，再加入 1.0% 洋菜進行固態培養，每一試管接種 2 個培植體，每種培植體處理共培養 10 試管，於 25 ± 1℃之恆溫下進行暗培養，培養 10 週後觀察癒合組織之外觀、顏色、軟硬度篩選優良癒合組織，並以 HPLC 分析其小蘗鹼含量。

癒合組織生長曲線建立及繼代時間探討

以 WPM 基礎鹽類添加 1.0 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D，pH 值 5.7 ± 0.1，並加入 1.0% 洋菜為培養基，使用培養皿 (90 mm × 15 mm；PRO TECH，台灣) 內含約 25 mL 培養基進行固態培養，於 25 ± 1℃ 之恆溫下進行暗培養。將誘導篩選出之癒合組織分別以總重 0.5 g、1.0 g 分成 10 等份，並於第 5、10、12、14、16、18、20、25、30 天取樣測定重量，並繪製生長曲線，以求出癒合組織最佳之繼代時間。

台灣黃蘗細胞懸浮培養之建立

建立懸浮細胞母瓶：以 WPM 基礎鹽類添加 1.0 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D 為培養基，pH 值 5.2 ± 0.1，將葉柄誘導之癒合組織 0.5 g 切碎，置於含 20 mL 液體培養基之 125 mL 三角瓶內，以 80 rpm 進行平面迴轉式震盪培養，每周更換培養基 1 次，培養環境為 25 ± 1℃ 恆溫暗處理。

建立懸浮細胞生長曲線：培養基同前項，取 1.5 mL (約 1.0–1.2 g) 懸浮細胞置於內含約 20 mL 液體培養基之 125 mL 長臂三角錐形瓶 (De-long flask) 內，重複次數為 12 瓶，以 100 rpm 進行震盪培養，培養環境為 25 ± 1℃

恆溫暗處理。於第 0、5、10、15、20、25、30、35、40、45 天測量細胞沉降體積 (packed cell volume, PCV)，並繪製生長曲線。

懸浮細胞量化生長最適量：分別取懸浮細胞鮮重各 10、30、50 g，置於內含 40 mL 原液與 160 mL 新鮮培養基之 1000 mL 三角錐形瓶中，以 100 rpm 進行震盪培養，培養環境為 25 ± 1℃ 恆溫暗處理。14 天後以 400 mesh 篩網過濾秤鮮重，評估最適細胞量與培養基體積比例。

植物生長調節劑處理

為評估植物生長調節劑 BA、NAA 及 IBA 對懸浮細胞小蘗鹼含量影響，將鮮重 5 g 懸浮細胞，置於內含 20 mL 原液和 80 mL 新鮮 WPM 培養基之 500 mL 三角錐形瓶中，於培養第 18 天後進行下列 4 種處理：(1) 添加 6 mg/L NAA 及 2 mg/L BA；(2) 添加 6 mg/L IBA 及 2 mg/L BA；(3) 未添加 NAA、IBA、BA 之正常懸浮細胞；(4) 未添加 NAA、IBA、BA 之已褐化懸浮細胞，各 3 重複，於第 28 天後以 400 mesh 篩網過濾取懸浮細胞，經冷凍乾燥後取約 0.5 g 進行小蘗鹼萃取及 HPLC 分析。

小蘗鹼萃取、分析方法與檢量線製作

不同溶劑萃取效益評估：以市售之黃蘗為材料，經冷凍乾燥後以粉碎機磨碎，分別以 99.5% 甲醇、95% 乙醇、75% 乙醇、100% H_2O 共 4 種溶劑進行小蘗鹼萃取，評估不同溶劑之萃取效益。秤取約 0.02 g 粉末置於 50 mL 離心管中，第一次加入 20 mL 萃取溶劑，並經超音波震盪 60 分鐘後，以 12,000 rpm 離心 1 分鐘取上清液至另一離心管，殘渣再加入萃取溶劑 10 mL，並經超音波震盪 30 分鐘後再次離心取上清液，殘渣第三次加入 5 mL 萃取溶劑，經超音波震盪 30 分鐘後離心取上清液，合併三次上清液以萃取溶劑定量成 35 mL，取 1 mL 萃取液用 0.45 μm 濾膜 (Millipore) 過濾後進行 HPLC 分析，每一萃取溶劑重複 3 次 (Su *et al.* 1990; Iwasa *et al.* 1998)。

癒合組織與懸浮細胞之萃取：經前項分析以 75% 乙醇為較佳萃取溶劑，因而以 75% 乙醇進行後續萃取。癒合組織或懸浮細胞經冷凍乾燥，以粉碎機磨碎為樣品，取 0.5 g 粉末置於 50 mL 離心管中，後續萃取處理同前項 (Su *et al.* 1990; Iwasa *et al.* 1998)。

懸浮細胞培養液之萃取：取台灣黃蘗懸浮培養液 20 mL，經減壓濃縮乾燥，加入 5 mL 75% 乙醇萃取，並經超音波震盪 60 分鐘後，取 1 mL 萃取液用 0.45 μm 濾膜過濾後進行 HPLC 分析。

標準品製備及檢量線製作：鹽酸小蘗鹼成分標準品購自 Sigma 公司，精稱鹽酸小蘗鹼 10 mg溶於 99.5% 甲醇，以定量瓶定容至 100 mL 為母液 (100 μg/mL)，分別取母液 1、2、3、4 及 5 mL，再用甲醇定容至 10 mL，製得 10、20、30、40 及 50 μg/mL 之標準溶液，以 0.45 μm 濾膜過濾後進行 HPLC，以製作小蘗鹼檢量線與迴歸方程式。

小蘗鹼高效液相層析 (HPLC) 分析：所用高效能液相層析儀為 Waters™ Alliance 2695 系統，搭配自動進樣器 Waters™ 717 plus Autosampler，偵測器為 Waters™ 900 Controller Photodiode Array Detector，分析管柱為 Inertsil® ODS-3 (C18, 4.6 mm i.d × 250 mm, 5 μm)，保護管柱為 Guard-Pak™。分析條件為：移動相 H_2O 500 mL/Acetonitrile 500 mL/KH_2PO_4 3.4 g/SDS 1.7 g，流速 1.0 mL/分鐘，管柱溫度控制 30℃，偵測波長為 343 nm。

統計分析

生長曲線變化數據結果以平均值 (mean)、標準差 (standard deviation, SD) 呈現。小蘗鹼標準品經 HPLC 分析後，以 Waters™ 液相層析儀附加之 Empower™ 3 套裝軟體建立檢量線，所用參數為小蘗鹼波峰面積及含量。其餘資料採用 SPSS 統計分析套裝軟體 (17.0 版，

參考文獻即使用手冊引用來源) 進行變方分析 (ANOVA) 後，以最小顯著差異性測驗 (least significant difference test, LSD test)，在 5% 顯著水準下比較各處理平均值之差異。

結　　果

台灣黃蘗芽體無菌培養

由種子育苗之台灣黃蘗新生植株，經生長 2 個月後，其生長高度大約為 15 cm，其葉片寬度約 1.5 cm，長度約 5.0 cm，取新生植株莖段，進行芽體誘導生長與增殖，可順利獲得無菌苗，移至培養瓶內生長良好 (圖 1)，所得無菌組培苗可應用於大量繁殖試驗之培植體來源，或作為癒合組織誘導之材料來源。

台灣黃蘗癒合組織之誘導

以生長 2 個月之新生植株嫩葉作為材料，分別以葉片、中肋及葉柄進行癒合組織誘導 (圖 2)，結果顯示約 28 天後可誘導出癒合組織，且以葉柄部位誘導之癒合組織外觀顏色較佳，呈淡黃色且組織柔軟，因此，後續以此癒合組織作為繼代培養之材料，並改以 WPM 為基本鹽類，添加 0.5 mg/L 2,4-D、1.0 mg/L BA、1000 mg/L casein hydrolysate、10% coconut milk、3% sucrose 及 1% agar，pH 5.2 為繼代培養基。

將篩選出之癒合組織分別以初始鮮重 0.5 g 及 1.0 g 培養於 25 mL 固體培養基，生長情形隨天數變化如圖 3，定期取樣秤鮮重並繪製癒

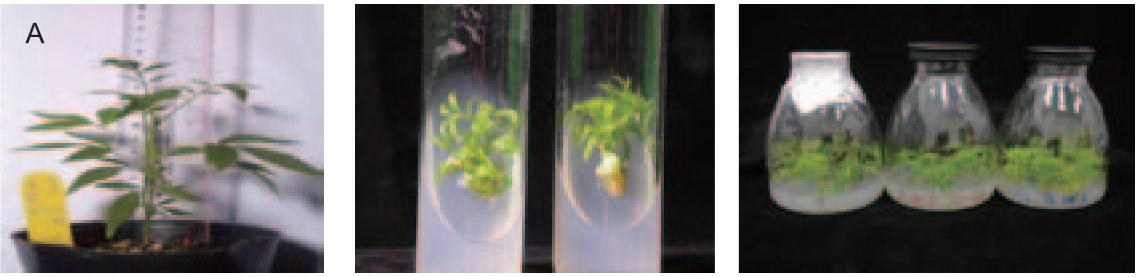


圖 1. 以台灣黃蘗 2 個月大新生植株之莖段誘導生產無菌瓶苗。(A) 生長 2 個月之實生苗植株；(B) 莖段誘導 1 個月之芽體；(C) 移植 1 個月後之無菌瓶苗。

Fig. 1. Shoot proliferation of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* induced from stem cuttings (B, C) of 2-month-old seedings (A). (A) A 2-month-old seeding; (B) Shoots induced from stem cuttings after incubation on MS medium for one month; (C) Shoots transplanted on MS medium for one month.

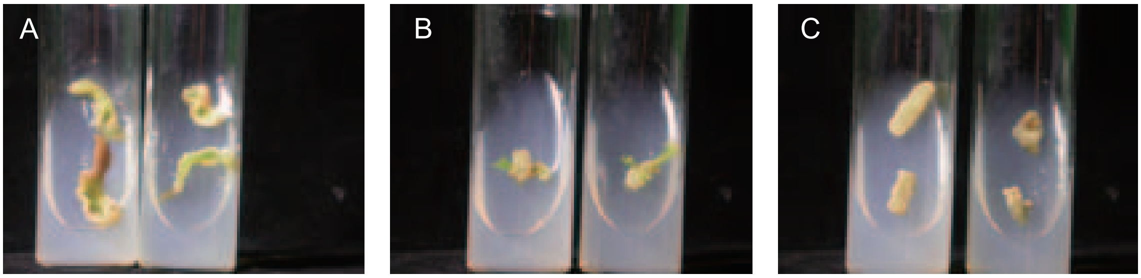


圖 2. 台灣黃蘗幼苗葉片不同部位之癒合組織誘導情形。(A) 葉片；(B) 中肋；(C) 葉柄。

Fig. 2. Induction of callus formation of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* from different parts of leaves. (A) leaf blade; (B) midrib; (C) leaf petiole.

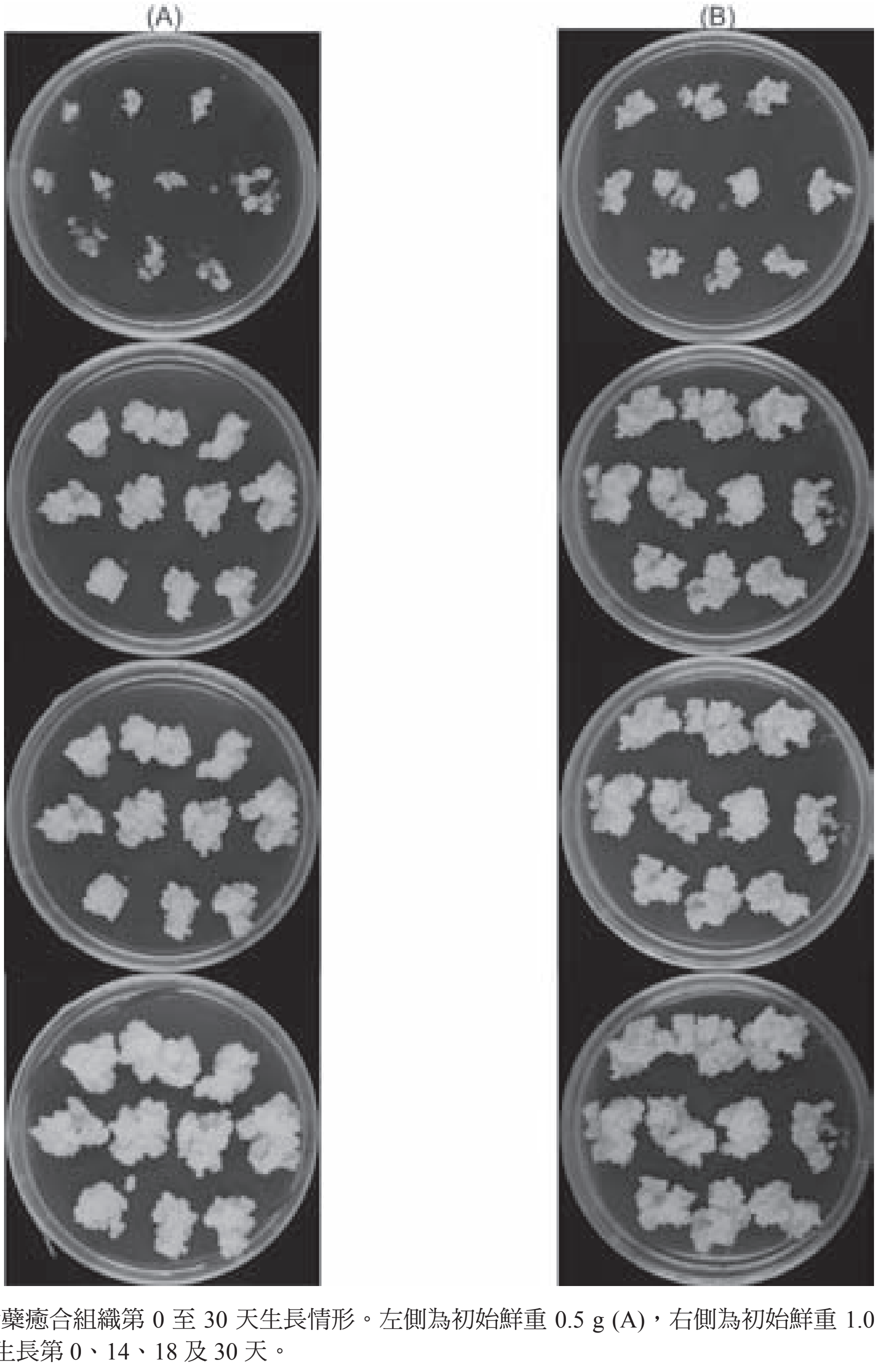


圖 3. 台灣黃蘗癒合組織第 0 至 30 天生長情形。左側為初始鮮重 0.5 g (A)，右側為初始鮮重 1.0 g (B)，由上至下分別為生長第 0、14、18 及 30 天。

Fig. 3. Calli of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* cultured on MS medium with 1.0 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D for 0 to 30 days. From top plates to bottom plates: 0-, 14-, 18-, and 30-day-old cultures, respectively. Cultures in left column (A) were from calli with initial fresh weight of 0.5 g/callus; and cultures in right column (B) were from calli with initial fresh weight of 1.0 g/callus.

合組織生長曲線圖 (圖 4)，結果顯示以 0.5 g 之癒合組織為最初之生長量，其生長對數期為第 12 天 (2.28 g) 至第 14 天 (6.63 g)，第 18 天達最大量 7.38 g，第 20 天細胞量減少並停止生長，其最佳繼代時間為第 14–16 天；以 1.0 g 之癒合組織為最初之生長量，其生長對數期為第 12 天 (3.62 g) 至第 14 天 (7.15 g)，第 18 天達最大量 7.92 g，第 20 天至第 30 天細胞體積雖有增加但其重量卻減少，且繼代培養後細胞嚴重褐化。因此，以 0.5 g 初始接種量癒合組織之增殖率較高。

台灣黃蘗細胞懸浮培養之建立

將葉柄誘導之癒合組織 0.5 g 切碎，置於含 20 mL 添加 1.0 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D 之 WPM 液體培養基之 125 mL 三角瓶內，進行震盪培養，細胞生長情形如圖 5；以沈降體積 (PCV) 為指標進行懸浮細胞生長調查，細胞生長曲線如圖 6，結果顯示懸浮細胞在第 10–15 天為生長對數期，第 30 天達最大量 16.29 mL，而後停止生長，因此，最佳之繼代時間為第 16–18 天。

確認最佳繼代天數後，取台灣黃蘗懸浮細胞鮮重各 10、30、50 g 置於內含 200 mL 液體培養基 (40 mL 原液與新鮮 160 mL 培養液) 之 1000 mL 三角錐形瓶培養，並於第 14 天時進行生長倍數調查，結果顯示如表 1，以 10 g 懸浮細胞培養於 200 mL 液體培養基中增殖倍率最佳，細胞量可成長 3 倍以上；三個處理在第 14 天時之細胞量為 32–62 g，顯示 200 mL 液體培養基足可供應 62 g 以上細胞生長，在第 30 天觀察時甚至長滿懸浮細胞，並且無褐化情形。

小蘗鹼萃取、分析方法與檢量線製作

小蘗鹼標準品之 **HPLC** 分析：經測試不同移動相，確認以移動相 H_2O 500 mL/Acetonitrile 500 mL/KH_2PO_4 3.4 g/SDS 1.7 g 最佳，流速 1.0 mL/min，管柱溫度 30℃，偵測波長為 343 nm，以小蘗鹼標準品及市售黃蘗藥材萃取

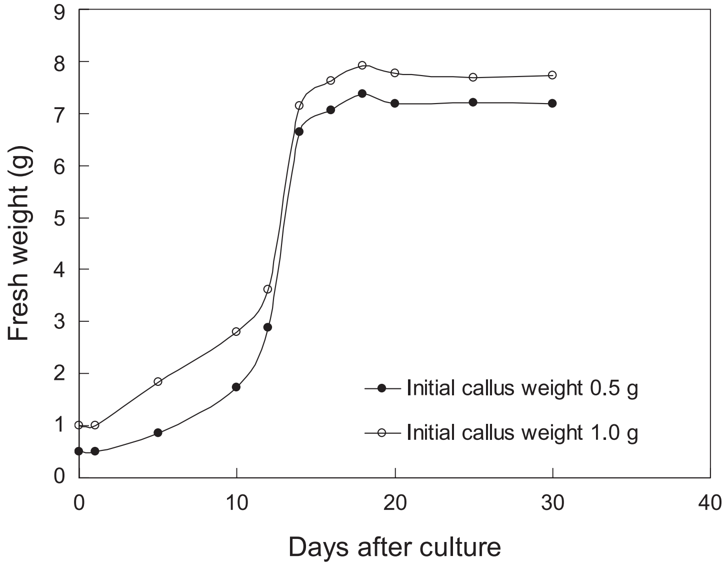


圖 4. 台灣黃蘗癒合組織生長曲線圖 (標準差介於 0.008–0.021 之間，無法在圖上顯示)。

Fig. 4. Callus cultures of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* growing from different initial callus weight (0.5 g/callus and 1.0 g/callus) for 0, 10, 20, 30 and 40 days. Standard deviation was 0.008–0.021.

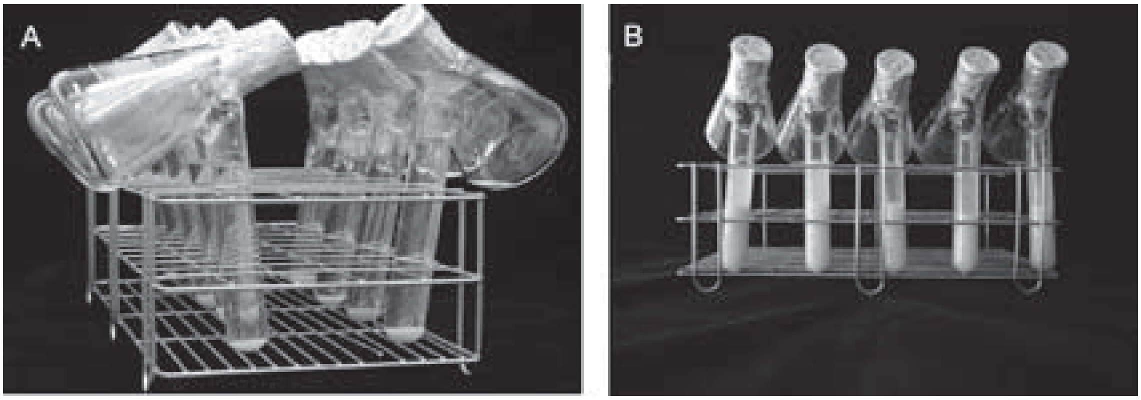


圖 5. 台灣黃蘗懸浮細胞培養生長調查。(A) 以 PCV 1.5 mL 之懸浮細胞為初始細胞量；(B) 為懸浮細胞第 12 天之生長調查。

Fig. 5. Cell proliferation of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* in suspension cultures in PCV for 0 day (A) and 12 days (B). Initial volume of cell suspension (0 day) was 1.5 mL in PCV.

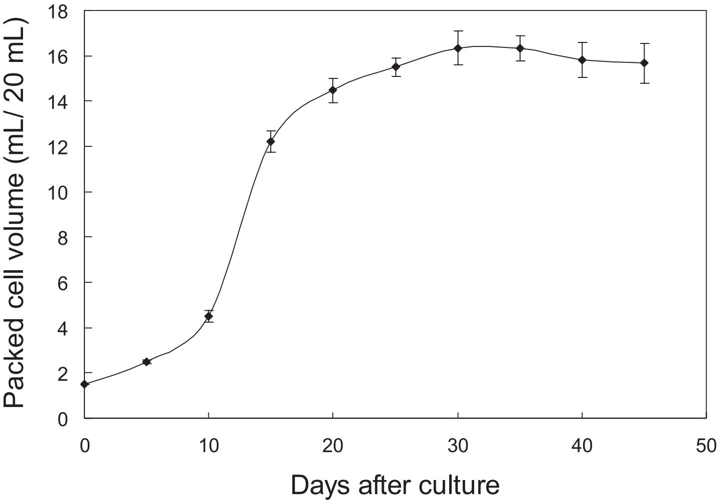


圖 6. 台灣黃蘗細胞懸浮培養生長曲線圖。圖上垂直誤差線為標準差 (n = 3)。

Fig. 6. Growth curve of cell suspension cultures of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii*. Vertical error bars indicate standard deviation (n = 3).

表 1. 不同初始懸浮細胞量對第 14 天後生長倍數的影響

Table 1. Effect of initial amount of cells of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* on amount of cells produced in 14-day-old suspension cultures

Initial amount of cells (g)	Amount of cells in 14-day-old cultures (g)	Proliferation multiplication
10	32.8 ± 0.7 c [z]	3.28
30	51.0 ± 3.4 b	1.70
50	61.7 ± 0.8 a	1.23

[z] Values are mean ± standard error (n = 6). Means within column followed by different letters are significantly different at 5% level by LSD test.

物所得 HPLC 分析圖譜如圖 7，小蘗鹼定性分析之波峰位置約在 13.5 分鐘。以不同濃度小蘗鹼標準溶液進行檢量線製作，標準曲線之結果如圖 8，R^2 可達 0.999 以上，表示此分析方法穩定性高，但進行每一批次樣品之 HPLC 分析時，皆會以 10、20、30、40 及 50 µg/mL 之小蘗鹼標準溶液重新製作檢量線，以維持分析準確性。

不同溶劑之小蘗鹼萃取效益評估：以市售黃蘗藥材為材料，分別以 99.5% 甲醇、95% 乙醇、75% 乙醇及水共 4 種溶劑進行小蘗鹼萃取，經萃取及HPLC分析得知，小蘗鹼含量依序為 1.32%、0.5 %、3.21% 及 2.32%，經統計分析在 4 種溶劑處理之間均達顯著差異 ($P < 0.05$)，表示以 75% 乙醇進行 3 次萃取，可萃得最高含量小蘗鹼，後續試驗也都以 75% 乙

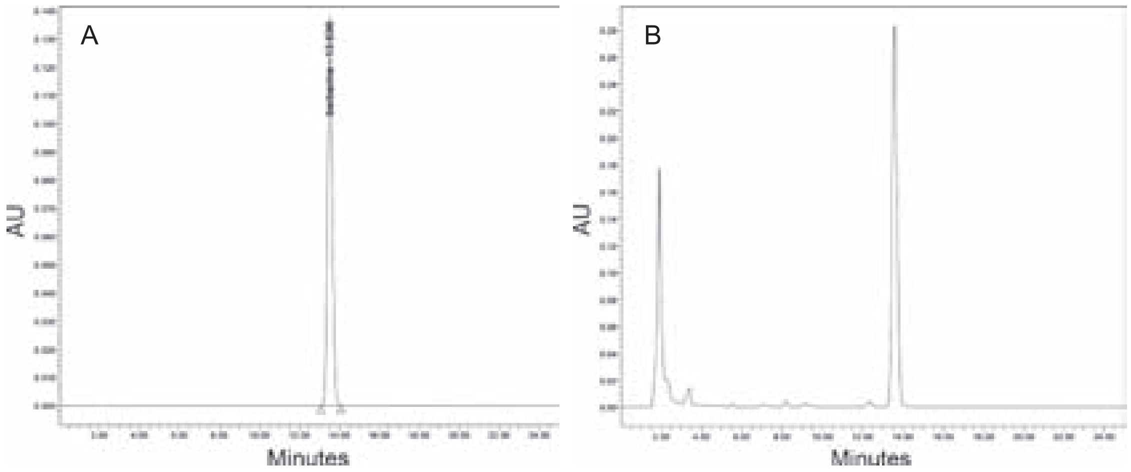


圖 7. 小蘗鹼標準品 50 ppm (A) 及市售黃蘗藥材 (B) 萃取物之 HPLC 圖譜。

Fig. 7. The HPLC chromatograms showing the peak of berberine from 50 ppm standard sample (A) and the peak from extracts of *Phellodendron wislonii* bark slices from a commercial market (B).

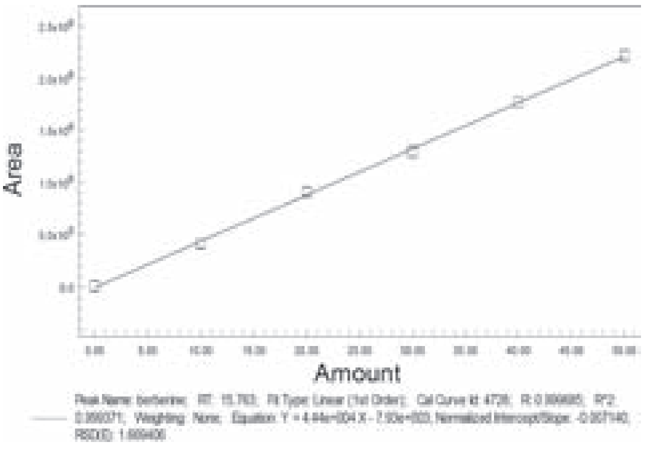


圖 8. 小蘗鹼 HPLC 分析之檢量線。

Fig. 8. The HPLC standard calibration curve of berberine.

醇為萃取溶劑。

植物生長調節劑處理以提高懸浮細胞小蘗鹼含量

取台灣黃蘗之癒合組織進行萃取及成份分析，結果顯示癒合組織中並無小蘗鹼含量，又癒合組織需以固態培養基培養，生長調節劑處理不方便，因而後續試驗皆以懸浮細胞為材料，進行不同處理以提高小蘗鹼含量。以 WPM 培養基進行台灣黃蘗懸浮細胞培養，於第 18 天外加不同植物生長調節劑處理，細胞生長及增殖情形良好，外觀及生長量無明顯差別，第 28 天時取懸浮細胞經萃取及 HPLC 分析圖譜如圖 9，由圖中可以看到小蘗鹼被誘導產生，比較不同生長調節劑處理誘導結果，4 種處理分別為 (1) 添加 6 mg/L NAA 及 2 mg/L BA；(2) 添加 6 mg/L IBA 及 2 mg/L BA，(3) 未添加 NAA、IBA、BA 之正常懸浮細胞；(4) 未添加 NAA、IBA、BA 之已褐化懸浮細胞，小蘗鹼分析含量依序為 188.68、59.74、69.19 及 13.59 μg/g dw，經統計分析在 4 種處理之間均達顯著差異 ($P < 0.05$)，以添加 2 mg/L BA 及 6 mg/L NAA 處理之小蘗鹼含量最高，但 4 種處理培養後之培養基中都未測得小蘗鹼含量，顯示在此培養期間，懸浮細胞生合成的小蘗鹼並不會釋放到培養基中。

討　論

台灣黃蘗為優異的黃蘗藥材來源，從栽培至可供藥材使用需費時 6–8 年，因市場需求而過度採集，野外已甚為少見，屬於保育類木本植物，但台灣黃蘗近年來遭非法砍伐或剝皮層時有所聞，實有加速復育之必要；另一方面，藥用植物之活性成分往往隨產地不同有所差異，依台灣黃蘗之地理海拔分佈不同，其樹皮

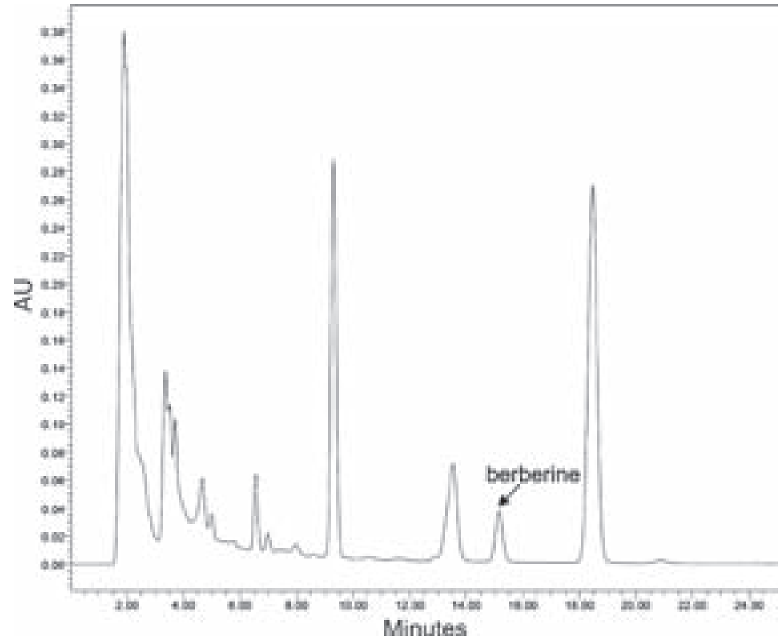


圖 9. 台灣黃蘗懸浮細胞萃取物之 HPLC 圖譜。

Fig. 9. The HPLC chromatogram showing berberine (arrow) in the extract of cell suspension cultures of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii*.

之小檗鹼含量也不同 (2.1% 到 3.1% 不等)，可能與種原變異有關。本研究以發芽二個月內之新生植株莖段為培植體，可順利獲得生長良好之無菌組培苗，可作為癒合組織誘導之材料來源，另一方面，日後若篩選高小檗鹼含量單株作為材料來源，可以此基礎進行組織培養苗大量繁殖，作為復育栽培之優良種苗來源，相似模式在利用紅豆杉生產紫杉醇已有成功先例。

藉由台灣黃蘗懸浮細胞培養來生產小檗鹼，是進行野外植株復育外的另一選擇，可在細胞培養條件下穩定的生產小檗鹼，誘導篩選高品質之癒合組織，並建立台灣黃蘗懸浮細胞培養系統是重要基礎。本研究以種子發芽生長 2 個月後之新生植株的葉片作為培植體，分別以葉片、中肋及葉柄進行癒合組織誘導，都有不錯的效果，顯示幼嫩的葉片是癒合組織誘導的適當材料，Koul *et al.* (1983) 也曾指出 *Bupleurm falcatum* 近頂芽尖端之嫩芽，誘導癒合組織能力可達 100%，隨著葉片年齡增加，誘導率驟降，老葉幾乎喪失癒合組織誘導力。在台灣黃蘗葉片三個部位中，又以葉柄部位誘導效果最佳，癒合組織外觀顏色較佳且組織柔軟，如此結果與 Tai (1996) 研究結果大致相同，但本研究發現在誘導癒合組織中添加 2 mg/L 2,4-D，則癒合組織全部褐化，降低濃度至 0.5 mg/L 2,4-D 則誘導結果良好，繼代培養也獲得同樣結果，以 WPM 固態培養基及加入其他有機成分，繼代培養之癒合組織質地鬆軟，顏色淡黃且鬆散，生長旺盛無褐化現象，推究原因可能是培植體來源及部位不同，本研究使用台灣黃蘗幼株嫩葉，而 Tai (1996) 取用成株嫩葉進行誘導，導致 2,4-D 最適用量不同。

相對於一般木本植物之癒合組織及細胞生長緩慢且容易褐化，本研究所獲得之台灣黃蘗的細胞癒合組織，繼代培養後生長期可至少維持 30 天不褐化，以最初細胞量 0.5 g，生長至第 18 天約成長 8 倍之多，且質地鬆軟、顏色淡黃，適合作為細胞懸浮培養材料，移至 WPM 液體培養基可順利進行懸浮細胞培養，其細胞生長量於第 20 天後約成長 9 倍之多，並持續生長至少 30 天，且細胞顏色淡黃能持續生長旺盛及無褐化現象。

取台灣黃蘗癒合組織及未經處理誘導之懸浮細胞進行 HPLC 分析，二者皆含微量小蘗鹼成分，而 Yamamoto *et al.* (1987) 曾指出東亞唐松草 (*T. minus*) 之癒合組織或細胞懸浮培養，其小蘗鹼含量與原母株之小蘗鹼含量多寡無絕對關係，建議可篩選生長旺盛且無褐化之細胞系增加生物產量，再藉由逆境處理或使用添加物，達到促進小蘗鹼生合成之目的，而 Hara *et al.* (1994) 進行東亞唐松草細胞懸浮培養時，添加 BA 能活化 norcoclauine-O-methyl-transferase (NCMT)，進而能使小蘗鹼產量增加，因此，本研究之台灣黃蘗懸浮細胞培養採用二階段方式，在懸浮細胞生長初期，使懸浮細胞增殖，在懸浮細胞增殖 18 天後，以不同生長調節劑進行誘導處理，結果發現同時加入 2 mg/L BA 及 6 mg/L NAA 處理組合，誘導出之小蘗鹼含量最高，並且將培養天數持續至 28 天以上，同時細胞生長量可增加為初始之 10 倍。

關於台灣黃蘗成分萃取及分析方面，本研究發現同一材料以 75% 乙醇為萃取溶劑可萃得較高量小蘗鹼，此法方便快速且有效，相較於其他萃取溶劑 (如氯仿等) 無致癌性及副作用之虞，且於後續活性成分純化、藥理實驗 (動物、人體等) 更為便利安全。在 HPLC 分析方面，許多植物含有小蘗鹼成分，但其中亦含其他數種不同之化合物，因此，不同植物之萃取物如以同一波長或移動向為相同分析條件，極可能會發生干擾情形，以狹葉十大功勞為例，其小蘗鹼最適檢測波長為 260 nm，但本實驗分析台灣黃蘗懸浮細胞之小蘗鹼含量以波

長 343 nm 最佳。

整體而言，本研究以台灣黃蘗幼株進行癒合誘導，並能順利建立懸浮細胞培養系統，在懸浮細胞培養後期添加 BA 及 NAA 可誘導小蘗鹼生合成，可作為日後以台灣黃蘗細胞進行小蘗鹼大量生產之基礎，再者，懸浮細胞若以不同之生長調節劑處理，也可能誘導出棕櫚鹼及黃蘗鹼等其他藥用成分。比較市售黃蘗藥材與台灣黃蘗懸浮細胞之 HPLC 圖譜 (圖 7 及圖 9)，發現二者圖譜差異甚大，黃蘗藥材以小蘗鹼為主，其餘成分在 343 nm 波長下並無呈現，而懸浮細胞在 9.5、13.5 及 18.5 分鐘另有其他成分生合成，其中一個成分已確認為棕櫚鹼 (Palmatine)，如此結果說明台灣黃蘗懸浮細胞培養具有生產藥用成分潛力。

引用文獻 (Literature cited)

AboEl-Nil, M. M. 1997. Tissue culture of native plants in the developing countries. Acta Hortic. 447:507–513.

Chiu, N. Y. and K. H. Chang. 1999. The Illustrated Medicinal Plants of Taiwan. SMC Publishing Inc. Taipei. 283 pp. (in Chinese)

Hara, M., S. Tanaka, and M. Tabata. 1994. Induction of a specific methyltransferase activity regulating berberine biosynthesis by cytokinin in *Thalictrum minus* cultured cells. Phytochemistry 36:327–332.

Ho, C. K., S. H. Chang, and K. H. Chen. 2005. Production of secondary metabolites via bioreactor. Agriic. Biotechnol. Ind. Quarterly 1:23–25. (in Chinese)

Iwasa. K., H. Nanba, D. U. Lee, and S. I. Kang. 1998. Structure-activity relationships of protoberberines having antimicrobial activity. Planta Med. 64:748–751.

Kan, W. S. 1986. Pharmaceutical Botany. National Research Institute of Chinese Medicine. Taipei. 699 pp. (in Chinese)

Koul, S., A. Ahuja., and S. Grewal. 1983. Growth and alkaloid production in suspension cultures of *Hyoscyamus muticus* as influenced by various cultural parameters. Planta Med. 47:11–16.

Liao, C. T. 2000. Introduction to Medicinal Plants. China Medical University. Taichung. 414 pp. (in Chinese)

Nakagawa, K., A. Konagai, H. Fukui, and M. Tabata. 1984. Release and crystallization of berberine in the liquid medium of *Thalictrum minus* cell suspension cultures. Plant Cell Rep. 3:254–257.

Nakagawa, K., H. Fukui, and M. Tabata. 1986. Hormonal regulation of berberine production in cell suspension cultures of *Thalictrum minus*. Plant Cell Rep. 5:69–71.

Su, Y. J., R. S. Yang, and C. Y. Kao. 1990. Secondary metabolite production through tissue culture. Bioindustry 1:1–14. (in Chinese)

Tai, S. S. 1996. Tissue Culture of *Phellodendron wilsonii* HAY. et KANEHIRA. Master Thesis. School of Chinese Medicine, China Medical University. Taichung. 103 pp. (in Chinese with English abstract)

Tsay, H. S. 1984. The studies on plant tissue culture techniques and their application in TARI. Sci. Agric. 32:205–210. (in Chinese)

Tu, C. C., H. S. Lu, and S. Y. Liu. 1995. Proceeding of a Symposium on Development and Utilization of Resources of Medicinal Plants in Taiwan (Special Publication of TARI No. 48). Taiwan Agricultural Research Institute. Taichung. 346 pp. (in Chinese)

Tzeng, S. Y. 2006. Studies on the Tissue Culture and Berberine Content of *Mahonia fortunei* Fedde. Master Thesis. Graduate Institute of Agriculture, National Chiayi University, Chiayi. 100 pp. (in Chinese with English abstract)

Yamamoto, H., M. Suzuki, Y. Suga, H. Fukui, and M. Tabata. 1987. Participation of an active transport system in berberine-secreting cultured cells of *Thalictrum minus*. Plant Cell Rep. 6:356–359.

Berberine Production in Cell Suspension Cultures of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* (Hayata & Kanehira)[1]

Chi-Han Liu[2], Jui-Sheng Lai[3], Horng-Mo Lee[4], and Min-Tze Wu[3,5]

Abstract

Liu, C. H., J. S. Lai, H. M. Lee, and M. T. Wu. 2012. Berberine production in cell suspension cultures of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* (Hayata & Kanehira). J. Taiwan Agric. Res. 61:196–208.

Barks of Huang-Po (*Phellodendron* spp.) contain berberine and it is used as an important herbal medicine for the treatment of fever, inflammation, stomach ache and intestinal illness. Taiwan Huang-Po [*Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* (Hayata& Kanehira)] is a native species in Taiwan and the bark of this plant is used as an important medicine because of its high berberine content. However, it would take more than 6–8 years to grow Taiwan Huang-Po trees for harvesting barks. In addition, the supply of barks of Taiwan Huang-Po from natural habitat is dwindling due to excessive harvesting of this plant. The objective of this study was to establish a cell suspension culture method for production of berberine from Taiwan Huang-Po, as an alternative method for production of berberine from barks of plants grown in natural habitat. Two months old seedlings were used as explants to induce callus in this study. Leaf petiole was proven to be the best tissue for callus induction. Leaf petiles were placed on Murashige and Skoog (MS) basal medium containing 0.5 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 1.0 mg/L 6-benzylaminopurine (BA) and incubated in dark for 28 days to form callus tissues which were used as inoculum for cell suspension cultures. Callus tissues were inoculated on a medium containing WPM basal salt amended with 0.5mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA and the cell suspension was cultured on a shaker at 100 rpm for 20 days and then used for testing amount of cells and berberine in the cultures. Results showed that the total amount of cells in the cell suspension cultures increased by 9 folds after incubation for 20 days but no berberine was detected when the cells were extracted by 75% ethanol and analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). In contrast, suspension cells grown in the medium containing 2 mg/L BA and 6 mg/L α-naphthaleneacetic acid (NAA) for 18 days, resulted in production of berberine. Berberine accumulation reached 188.68 μg/g dry weight in the 28-day-old, cell-suspension culture. Thus, this method of employing growth regulators in cell suspension culture may be important in eastablishing protocol for industrial production of berberine from cell suspension cultures of the endemic species *P. amurens*.

Key words: *Phellodendron amurense* var. *wilsonii*, Callus, Cell suspension, Berberine, High performance liquid chromatograph (HPLC).

---

1. Contribution No. 2671 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: June 5, 2012.
2. Graduate student, Institute of Pharmaceutical Science, Central Taiwan University of Sciences and Technology, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Respectively, Assistant Researcher, Researcher and Head, Biotechnology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
4. President, Central Taiwan University of Sciences and Technology, Taichung, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author, e-mail: wu@tari.gov.tw; Fax: (04)23302806.

台灣感染萵苣之 *Bidens mottle virus*：病毒鑑定及全長度基因體解序分析[1]

陳金枝[2,3] 鄧汀欽[2] 黃春惠[2] 林碧雲[2] 廖吉彥[2]

摘　要

陳金枝、鄧汀欽、黃春惠、林碧雲、廖吉彥。2012。台灣感染萵苣之 *Bidens mottle virus*：病毒鑑定及全長度基因體解序分析。台灣農業研究 61:209–221。

從田間栽培萵苣之葉片呈現黃化嵌紋病徵組織，獲得一個病毒分離株，命名為 WF，其與 *Potyvirus* 專一性單株抗體產生正反應，並與 *Potyvirus* 屬病毒之簡併式引子對 HRP-5/Oligo-dT$_{(14)}$ 進行反轉錄-聚合酶鏈鎖反應 (Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 可得到一預期之 1.3 kb DNA 片段，RT-PCR 產物經選殖及定序後，證實其鞘蛋白胺基酸序列與 *Bidens mottle virus* (BiMoV) 向日葵分離株 (SF-1, GenBank Accession number NC_014325) 相同度最高，達 99.3%。以 WF 分離株之純化病毒顆粒所製備完成之多元抗血清 (As 161)，與萵苣分離株 WF 及由美國 ATCC 購得之 BiMoV 標準對照株，於 SDS-免疫擴散反應中均產生免疫沈澱反應，且彼此之沈澱帶互相融合呈現同源反應。由分子生物學及血清學之證據顯示萵苣 WF 分離株屬於 BiMoV 病毒。本研究亦由花蓮栽培之萵苣獲得一病毒分離株 HL 及咸豐草上分離得三個病毒分離株 B3、B4、及 B12，此等分離株與 WF 抗血清反應後均與 WF 分離株產生血清同源反應，其大蛋白 (polyprotein) 胺基酸序列均與 BiMoV 病毒之相同度達 97% 以上，顯示在台灣之萵苣及咸豐草已受到 BiMoV 之感染。本研究針對 BiMoV-WF、HL、B3、B4、及 B12 等病毒分離株均已完成其全長度基因體之核甘酸定序，登錄於 GenBank 取得登錄序號分別為 EU250213、EU250214、EU250212、EU250211、及 EU25021。由病毒全長度鞘蛋白胺基酸序列分析分離株間的類緣關係，結果顯示萵苣分離株與咸豐草分離株個別形成分群現象，而向日葵分離株與萵苣分離株類緣關係較相近。本研究為 BiMoV 的萵苣及咸豐草分離株基因體全長度定序及其分子特性之首次報告。

關鍵詞：咸豐草斑紋病毒、萵苣、全長度基因體。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2681 號。接受日期：101 年 6 月 18 日。
2. 本所植物病理組助理研究員、研究員、研究助理、研究助理、助理研究員。台灣 台中市。
3. 通訊作者，電子郵件：chinzue@tari.gov.tw；傳真機：(04)23302803。

前 言

Bidens mottle virus (BiMoV) 為 *Potyvirus* 屬病毒，病毒粒子呈長絲狀 (長度約 720–750 nm)，可藉由蚜蟲或汁液機械傳播病毒，目前尚未有種子傳毒之證據 (Edwardson & Zettler 1968; Purcifull *et al.* 1971)。BiMoV 最早乃由 Christie *et al.* (1968) 於美國佛羅里達地區之咸豐草上分離出來，隨後被發現廣泛發生於佛羅里達州並成為影響該州南部蔬菜栽培的重要病毒病害 (Orsenigo & Zitter 1971)。此病毒之寄主範圍廣泛 (Purcifull *et al.* 1971; Zurawski *et al.* 1980)，涵蓋有萵苣 (Purcifull *et al.* 1971; Purcifull & Zitter 1971; Zitter 1976)、菊苣 (Zitter 1976)、蠶豆 (Baker *et al.* 2001)、扁豆 (*Lupinus angustifolius*) (Edwardson *et al.* 1976)、網紋草 (*Fittonia verschaffeltii*) (Zurawski *et al.* 1980)、百日草 (*Zinnia elegans*) (Maritan *et al.* 2004)、金盞花 (*Calendula* spp.) (Huang & Jan 2011)、黃翠菊 (Wisler 1984) 與霍香薊 (Logan *et al.* 1984) 等花壇植物及數種雜草植物如北美獨行菜 (*Lepidium virginicum*) (Christie *et al.* 1968)、薊罌粟 (*Argemone mexicana*) 和熱帶刺茄 (*Solanum viarum*) (Baker *et al.* 2007)、蕾絲花 (*Ammi majus*) (Baker *et al.* 2008)；台灣於向日葵上亦發現有此病毒之感染 (Liao *et al.* 2001, 2009)，2008 年筆者等人初步由萵苣及咸豐草分離出 BiMoV 之病毒分離株，證實此病毒在此等作物上之發生 (Chen *et al.* 2008)。

BiMoV 感染萵苣後造成植株葉片嵌紋、斑紋或矮化等病徵 (Purcifull & Zitter 1973)。目前明確有報導發生 BiMoV 病毒之地區包括美國 (Baker *et al.* 2001)、台灣 (Chen *et al.* 2008; Liao *et al.* 2009; Huang & Jan 2011) 及巴西 (Maritan *et al.* 2004) 等地。目前為止 BiMoV 病毒之核酸分子序列資料僅有發生於熱帶刺茄 (*Solanum viarum*) (Baker *et al.* 2007)、金盞花 (Huang & Jan 2011)、蕾絲花 (Youssef *et al.* 2007) 等病毒分離株之鞘蛋白或部分核酸片段序列，而全長度核酸序列僅有向日葵分離株被發表 (Liao *et al.* 2009)。Liao *et al.* (2001) 由向日葵分離之一種 *Potyvirus* 病毒分離株 (SF-1)，依據血清學特性及鞘蛋白基因序列比對分析結果，命名為向日葵黃化斑點病毒 (Sunflower chlorotic spot virus, SCSV)，後經進一步定序其全長度基因體，並與美國 ATCC 保存之 BiMoV 標準病毒株 (American Type Culture Collection, ATCC PV-165 isolate) 進行血清特性比對，證實該 SCSV-SF-1 實際為 BiMoV 的一個系統 (Liao *et al.* 2009)，但當時 ATCC PV-165 isolate 病毒鞘蛋白核酸尚未被定序，向日葵分離株 (SCSV-SF-1) 是 BiMoV 全長度基因體首度完成定序之記錄。

BiMoV 病毒於萵苣上發生及其對萵苣的影響早有報告 (Purcifull *et al.* 1971; Purcifull & Zitter 1971; Zitter 1976)，然至今尚缺乏病毒之全長度基因體序列以及其分子特性。本研究首次經由與 ATCC 保存之 BiMoV 標準病毒進行血清親緣關係比對，證實台灣栽培之萵苣有此病毒之發生，且進一步由萵苣及咸豐草等寄主所分離出之病毒分離株，完成其全長度基因體之選殖與定序，進而以其鞘蛋白基因序列之相同度進行比對以釐清 BiMoV 分離株間之分類地位。本研究亦由萵苣分離株所製備之病毒抗血清應用於血清檢測，作為生態調查與病毒檢定之需，得以掌握此病毒在台灣發生之概況。

材料與方法

病毒來源與保存

由霧峰地區田間栽培之萵苣植株，選取葉片呈現黃化嵌紋病徵之葉片組織，並與市售 *Potyvirus* 專一性單株抗體 (Agdia Inc. Elkhart, USA) 於 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 反應為正反應者，取其葉片浸漬於 50%

甘油中，於 -20℃下保存，供後續實驗所需。切取葉片病組織以磷酸鉀緩衝溶液 (0.05 M, pH 7.5) 研磨均質後，接種於奎藜 (*Chenopodium quinoa* Willd.) 葉片，並進行連續 3 次單斑之分離接種，以獲得單斑純化之分離株 (代號 WF)，以此分離株進行各項病毒鑑定之試驗材料來源。

本研究另由美國ATCC (American Type Culture Collection) 購得 BiMoV 標準病毒株 (BiMoV-PV165)、花蓮採集萵苣獲得之 HL 分離株、以及田間咸豐草上分離得 3 個病毒分離株 (B3、B4 及 B12)，作為 BiMoV 病毒鑑定及不同分離株特性之比較試驗。

寄主接種試驗

將繁殖於奎藜上之單斑病組織，以磷酸鉀緩衝溶液 (0.05 M, pH 7.5) 研磨均質後分別接種於紅藜 (*C. amaranticolor* Coste and Reyn)、咸豐草 (*Bidens pilosa*)、菸草 (*Nicotiana benthamiana* Domin)、向日葵 (*Helianthus annuus*)、及不同品種之萵苣 (*Lactuca sativa* L.) 如葉萵苣、球莖萵苣、尖葉萵苣、結球萵苣等。接種後之植株放置於溫室觀察病徵表現，接種後 14 天摘取葉片組織進行 ELISA 檢測。

另以 BiMoV-PV165 於農試所種原室之檢疫隔離溫室中進行上述之各項接種試驗，以比較病原性差異。試驗中使用之各項器物、土壤盆缽及植體殘留物等於試驗後均予以收集，以高壓滅菌釜銷毀之。

病毒純化及多元抗體製備

取 WF 萵苣分離株接種於菸草 (*N. benthamiana*)，採集菸草罹病組織 100 g 及磷酸萃取溶液 (0.5 M potassium phosphate、1% β-Mercaptoethanol、0.01 M EDTA，pH 7.5；使用前加入 0.25% Na_2SO_3) 以 1：2 (w/v) 之比例混合，以高速粉碎機均質之以進行病毒純化，相關純化步驟參照以往之研究 (Chen & Chang 1998)，最終以硫酸銫 (Cesium sulfate) 梯度離心法，吸取蛋白帶並濃縮病毒顆粒，病毒產量以波長 260 nm 之吸收值 (HITACH spectrophotometer 220S, HITACH, Ltd., Tokyo, Japan) 和 *Potyvirus* 之係數 2.4 (extinction coefficient) (Holling & Brunt 1981, Potyvirus Group. CMI/AAB Discriptions of Plant Virus, No. 245, http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=245) 作估算，病毒之蛋白質分子量以 12% SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) 電泳分析之 (Laemmli 1970; Chen & Chang 1998)。

以純化所得之病毒顆粒 (1 mg/mL) 懸浮液經輔助劑乳化後，進行每週 1 次，連續 4 週之紐西蘭兔免疫注射，每次注射 1 mg 之純化病毒液，第五週起由兔耳朵進行靜脈採血，以製備多元抗體。

抗血清免疫檢測分析

酵素連結免疫吸附反應 **(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)**：本試驗參照以往研究進行之 (Chang *et al.* 1988; Chen *et al.* 2010)，取 0.1 g 之罹病葉組織，以 3 mL 之 15 mM 碳酸鈉緩衝液 (sodium carbonate buffer, pH 9.6) 研磨均勻後，加入 96 孔 EIA 反應盤內，每樣品加 2 孔 (100 µL/well) 為 2 個重複，置於 37℃定溫 3–4 小時進行覆膜反應 (coating reaction)，然後以 1× PBST 緩衝液沖洗 3 次；其次分別加入欲檢定之病毒抗體後，放置在 25℃定溫箱反應 2–3 小時；爾後以 1× PBST 緩衝液沖洗 3 次，再加入已稀釋 6000 倍之山羊抗兔二次抗體 (Goat anti-Rabbit immunoglobin, Jackson, West Grove, PA) (100 µL/孔)，置於 25℃之定溫箱反應 2–3 小時；最後再以 1× PBST 緩衝液沖洗 4 次後，再以 150 µL/孔之比例加入濃度為 1 mg/mL之鹼性磷酸酶酵素基質 (p-NPP) (Amresco, Solon Ind., Ohio, USA) 進行呈色反應。反應 30 分鐘後，以 ELISA 讀值儀 (PTI max micro plate reader, Molecular Devices,

Sunnyvale, CA) 讀取波長 405 nm 下之吸收值，作為評估病毒濃度高低之依據。樣品吸光值大於 2 倍之健康葉片吸光值者，視為正反應。

SDS-免疫擴散反應 (Sodium Dodecyl Sulfate-immunodiffusion test)：將 BiMoV 感染的罹病組織研磨汁液及純化所得之鞘蛋白，分別與一次水及 3% SDS 以等體積比例混合 (1：1：1) 後，取其濾液於沸水中悶 3 分鐘，作為 SDS 處理過之抗原，再與自製之 #161 全血清進行 SDS-免疫擴散反應 (Purcifull & Batchelor 1977)，以觀察抗體與抗原間白色沈澱帶的血緣關係。

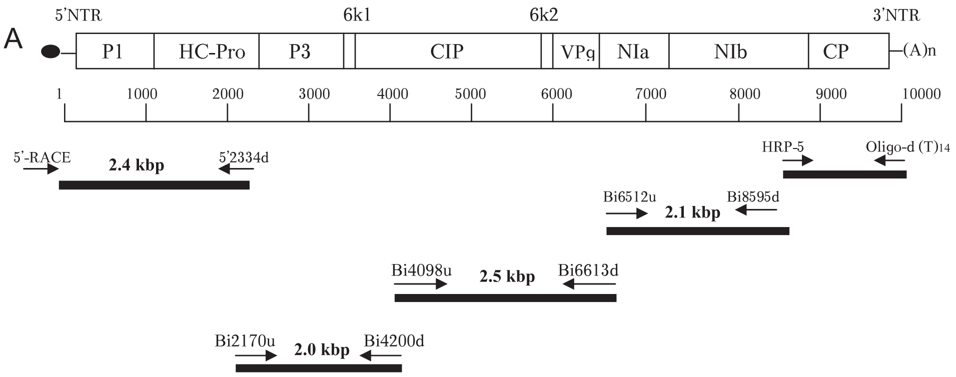
西方轉漬法 **(western blotting)：**取 0.1 g 之罹病葉組織，於液態氮中研磨均質後，加入 200 µL 之樣品處理液 (240 mM Tris-HCl, pH 6.8, 10% glycerol, 2% SDS, 4% β-Mercaptoethanol)，取 100 µL 研磨液加入等體積之 LDS 溶液 (Laemmli 1970) 混勻後，以沸水悶 3 分鐘。處理後之樣品經 SDS-PAGE 電泳後，取膠體將其轉漬於 PVDF 膜 (Millipore Co., MA, USA)，之後分別以欲檢測之病毒抗體進行血清反應。

病毒鞘蛋白核酸序列之選殖與定序分析

反轉錄-聚合酶鏈鎖反應 **(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)：**秤取 0.1 g 之罹病葉片組織，利用植物全量核酸純化試劑組 (RNeasy Plant Mini Kit; Qiagen, Hilden, Germany) 進行 RNA 核酸之純化。以此純化所得之全量 RNA 為模版，利用 *Potyvirus* 簡併式引子對 HRP-5/Oligo-dT$_{(14)}$ (5'ATGATHGARKCNTGGGG/5'GCGGCCGCTTTTTTTTTTTTTT) (Pappu *et al.* 1998; Chen *et al.* 2006) 進行 RT-PCR。依據單步驟 RT-PCR 試劑組 (Invitrogen Co., Carlsbad, CA) 之配方，於每 50 µL 反應液中分別加入 2 µL 全量 RNA、25 µL reaction buffer、18 µL Rnase free water、1 U Reverse transcription polymerase、及各 2 µL 之 20 µM HRP-5 和 Oligo-dT$_{(14)}$ 引子，於熱循環反應儀 (GeneAmp PCR system 9700, applied biosystems Co., Foster, CA) 中，設定反應程序為 50℃下進行反轉錄 30 分鐘，94℃變性 2 分鐘；之後進行 30 個 PCR 循環反應：94℃下變性 1 分鐘半，50℃下煉合 1 分鐘，72℃下聚合 2 分鐘，最後一個循環之 72℃聚合反應延長為 6 分鐘。此一反應預估可增幅出包含鞘蛋白大小約 1.3 kbp 之核酸產物，反應結果以 1.2% 電泳瓊膠 (SeaKem, Agarose, Cambrex Bio Science Rockland, Inc., Rockland, ME USA) 進行分析。

鞘蛋白核酸片段選殖和核甘酸序列分析：將 RT-PCR 增幅所得之 1.3 kbp DNA 片段選殖於 TOPO TA-PCRⅡ 載體上 (Invitrogen Co., Carlsbad, CA)，經篩選出含有 1.3 kbp DNA 之嵌入序列 (insert sequence) 選殖株送交明欣生物技術有限公司，以自動核酸定序儀分析其核甘酸序列，所得之序列以 Vector NTI Suite (InforMax, Inc. Wesconsin, USA) 分析軟體進行分析，並與 GenBank 上已登錄之病毒核酸序列進行鞘蛋白基因序列之比對。

病毒全長度基因選殖及解序：以各分離株之白藜病斑組織所抽取之全量核酸為 RNA 來源，並以 HRP-5/Oligo-dT$_{(14)}$ 引子對所增幅出之病毒 3' 端 1.3 kbp 核酸之已知序列為基礎，依據其鞘蛋白核酸序列初步鑑定其和 BiMoV-SF1 (NC_014325) 分離株為相同病毒之不同系統，乃以 BiMoV-SF1 全度基因體為參考基礎，繼續往病毒基因 5' 端設計引子對，進行病毒全長度核酸序列之選殖與定序 (圖 1A)。所設計使用之引子對包括 Bi6512u/Bi8595d (5'TGCCTAAGGACTTCCC/5'TTATTCTCAGGAGGAGGAATTT)、Bi4098u/Bi6613d (5'ATTATTTTGCAAACAATAGTGACCA/5'TGAGATTGATTTATTCTGGAAGTTT)、Bi2170u/Bi4200d (5'AATCTTCTACCCAGATGTTCATGA/5'AAGTTGGATGGTAGACGGATA) (圖 1B)。病毒 5' 終端 (5' end) 約 2.4 kb 之核酸



B

5'-RACE: the 5'-RACE abriged anchor primer (Gibco BRL)
5'2334d: 5'AGTGTTTTATGTCTGATTCCA
Bi2170u: 5'AATCTTCTACCCAGATGTTCATGA
Bi4200d:5'AAGTTGGATGGTAGACGGATA
Bi4098u:5'ATTATTTTGCAAACAATAGTGACCA
Bi6613d: TGAGATTGATTTATTCTGGAAGTTT
Bi6512u: 5'TGCCTAAGGACTTCCC
Bi8595d: 5'TTATTCTC AGGAGGAGG AATTT
HRP-5: 5'ATG ATHGARKCNTGGGG
Oligo-d $(T)_{14}$: 5'- GCGGCCGC$(T)_{14}$

圖 1. *Bidens mottle virus* (BiMoV) 全長度基因體之增幅與構築策略。

Fig. 1. The strategy for determination of the complete nucleotide sequences of the RNA genomes of *Bidens mottle virus* (BiMoV). (A) Schematic representation of the genetic structure of BiMoV and the overlapped cDNA fragments amplified from reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) by the primer pairs. Black bars represent length of amplified DNA fragments; (B) Sequences of the primers used in RT-PCR.

片段，則由已選殖定序出之病毒核酸序列設計 2 組引子 5'2395d (5'AAGTCAGACAGATT-GTCTGCA) 及 5'2334d (5'AGTGTTTTAT-GTCTGATTCCA)，並以純化病毒之核酸為模版，以 5'RACE 試劑組 (5'RACE System for Rapid Amplification of cDNA ends, Invitrogen Co. Carlsbad, CA)，進行 5' 終端之核酸序列增幅與選殖，反應程序依試劑組之建議方式進行。

病毒分離株之類緣關係分析：將本研究所得之不同病毒分離株，包括 2 個萵苣分離株 (WF、HL)，3 個咸豐草分離株 (B3、B4、B12)，向日葵分離株 SF-1 (NC_014325)，以及購自 ATCC 之 BiMoV 標準病毒 (BiMoV-PV165)，以其全長度基因體所對應之大蛋白 (polyprotein) 胺基酸序列進行類緣關係分析 (phylogenetic analysis)，分析方法依據Tomimura *et al.* (2003) 等學者所發表的方法進行。所有序列先以 CLUSTAL X version 1.8 (Thompson *et al.* 1997) 彙整分析後，再利用 PAUP 4.0 程式 (Swofford 1998) 進行 NJ (The neighbor-joining) 結合 BRM 法 (The bootstrap resampling method) (Felsenstein 1985; Thompson *et al.* 1997) 作分析。其中 bootstrap values 乃由逢機重複 1000 次的取樣所計算之結果，所得之類緣演化樹以 Tree view (Page 1996) 程式顯示。

結　　果

接種試驗結果

將罹病萵苣葉片 (圖 2A) 組織液，接種於奎藜後約 7–10 天左右於葉片上形成局部病

斑，14 天後則於新生葉片出現系統性的褪色病斑 (圖 2C)；紅藜上則於接種後 3–5 天左右即可見局部病斑形成，亦有系統性病斑產生。以奎黎葉片為接種源，接種於栽培種萵苣 (圖 2B)、菸草 (圖 2D)、向日葵 (圖 2E) 等植株，均有黃化嵌紋之病徵形成，利用 *Potyvirus* 專一性抗體以 ELISA 檢測罹病葉片也獲得正反應結果。BiMoV-PV165 的接種試驗結果與萵苣分離株者類似，但其病徵發展較緩，於奎藜及紅藜上於接種後 14 天左右有病斑形成，20 天左右產生有系統性病斑 (結果未出示)。本研究另由咸豐草上所得之病毒分離株 (圖 2F)，其接種結果和萵苣分離株相同。

萵苣分離株純化、抗血清製備及血清特性分析

純化之萵苣病毒分離株，其 260 nm/280 nm 之比率約為 1.2，符合 *Potyvirus* 屬病毒 260/280 為 1.24 之範圍與特性 (Stace-Smith & Tremaine 1970)，由 SDS-PAGE 所估算之鞘蛋白分子量約 30 kDa (結果未出示)。此蛋白與經兔免疫注射後所製備之 As 161 抗血清在 ELISA 試驗中呈現正反應。於 SDS-免疫擴散反應中，萵苣分離株全血清 (As 161) 與 BiMoV-PV165、萵苣分離株 WF、向日葵 SF-1 分離株及及咸豐草分離株等罹病組織抗原均可與產生明顯之白色沉澱帶，且沈澱帶間相互融合 (圖 3)，顯示此等病毒分離株在血清學上具同源性。

西方轉漬法之結果顯示 As 161，對於 BiMoV-向日葵、萵苣、咸豐草及 BiMoV-PV165 等分離株感染之罹病組織中均可檢出 BiMoV 病毒鞘蛋白相對應之分子量 (30 kDa) (圖 4)。

WF 分離株鞘蛋白核酸序列分析及 BiMoV 分離株基因體全長度分析

由萵苣分離株 WF，萃取其全量核酸並以 HRP-5/Oligo-dT$_{(14)}$ 引子對經 RT-PCR 反應後，於電泳分析中均可獲得一預估值約 1.3 kbp 左右之核酸片段，此等核酸片段經選殖及定序分析結果顯示，其對應鞘蛋白之胺基酸序列與感染向日葵之 *Bidens mottle virus* SF-1 (GenBank Accession No. NC_014325) 相同度最高 (表 1)，達 99% 以上，進而乃依據 BiMoV SF-1 之全長度基因體做為參考進行不同 BiMoV 分離株之基因體定序。

萵苣及咸豐草之 BiMoV 分離株，進行其全長度基因體之選殖與定序 (圖 1)，分別從不同來源之萵苣分離得 2 個選殖株，包括 WF 及 HL，登錄於 GenBank 上，其登錄序號分別為 EU250213 及 EU250214；由咸豐草上分離得 3 個選殖株，包括 B3、B4、B12，其登錄序號分別為 EU250210、EU250211 及 EU250212 (表 1)。所解得之不同分離株基因體序列，具有相同之基因體結構，包含有 9703 核苷酸 (不包括 3' 端之 poly A)，病毒 5' 端及 3' 端之非轉譯區。其中 5' 端之核苷酸序列包含 3 個 A (adenine)，蛋白轉譯起始位置為位於核苷酸 (nucleotide, nt) 134–136 之 AUG triplet；對應一個含有 3071 個氨基酸之大蛋白轉譯架構 (open reading frame)；不同分離株與 GenBank 上已登陸之 BiMoV-SF-1 (Acc. No. NC_014325) 全長度基因體序列之相同度分析結果顯示，對應全長度大蛋白及鞘蛋白之核苷酸與氨基酸相同度均高於 97% 以上。對應鞘蛋白氨基酸有 268 個，其起始位置第 8–10 個氨基酸為 DAG triplet，乃 *Potyvirus* 屬病毒可被蚜蟲傳播之分子證據 (Atreya *et al.* 1991)。

依據 BiMoV-SF-1 (Liao *et al.* 2009) 以及 *Potyvirus* 屬病毒氨基酸序列特性 (Ward *et al.* 1992) 歸納本研究所解得之不同 BiMoV 分離株之基因體對應之蛋白分解酶辨識位址(Protease recognition site)，均有一致性，分別是：P1protease 為 MTHF/S、HC-Pro protease為 YRVG/G，NIa protease 於 P3/6k1、6k1/CIP 及 CIP/6k2 之辨識位址分別為 VSHQ/G、VRHQ/S 及 VHHQ/S，於 6k2/VPg、VPg/NIa、NIa/

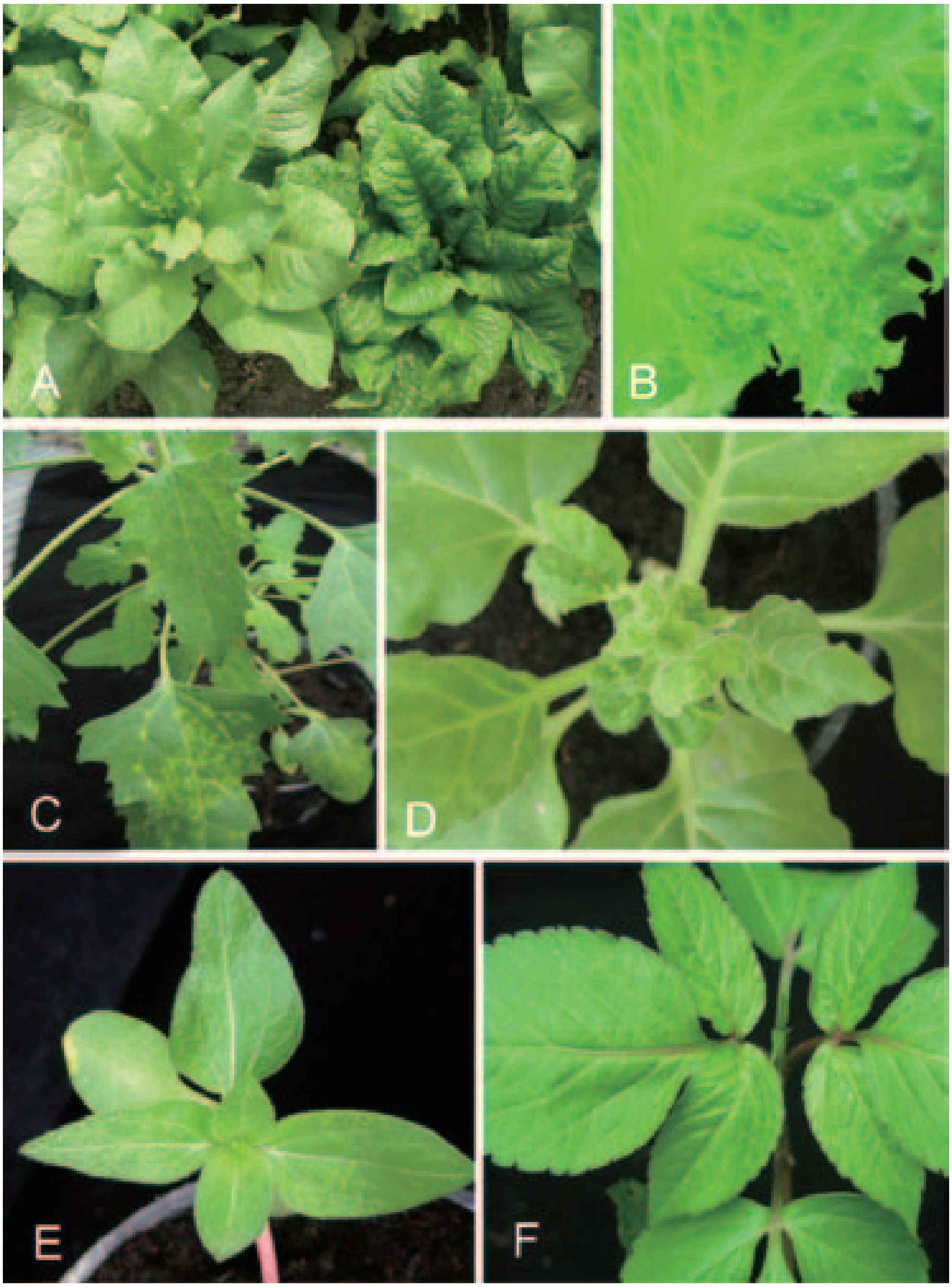


圖 2. *Bidens mottle virus* (BiMoV) 感染田間萵苣之病徵 (A)，及萵苣分離株 (BiMoV-WF) 接種萵苣 (B)、奎藜 (*Chenopodium quinoa*) (C)、菸草 (*Nicotiana benthamiana*) (D)、向日葵 (E) 及咸豐草 (F) 所引起之病徵。

Fig. 2. Symptoms of *Bidens mottle virus* (BiMoV) naturally infecting lettuce plants (A) and that caused by mechanical inoculation of BiMoV-WF on lettuce (B), *C. quinoa* (C), *N. benthamiana* (D), sunflower (E), and bidens (F).

圖 3. 對應 BiMoV-WF 分離株之多元抗體於 SDS 免疫擴散法中與不同分離株抗原之反應。

Fig. 3. The antiserum against BiMoV-WF reacted with various isolates of BiMoV in sodium dodecyl sulfate (SDS)-immunodiffusion test. The central well was filled with antiserum against purified virion of BiMoV-WF (As 161). The peripheral wells were filled with SDS-treated antigens including B4 (bidens isolate), PV165 (ATCC typical isolate of BiMoV), SF1 (sunflower isolate), WF (lettuce isolate), and H (healthy lettuce control), respectively.

Nib 及 NIb/CP 之辨識位址分別為VRHQ/G、ASHE/S、VREQ/G 及 VHHQ/A。

由本研究所得之 BiMoV 萵苣及咸豐草分離株，以其全長度大蛋白之氨基酸序列與 BiMoV-SF-1 進行類緣關係分析，由其樹狀圖可發現依照寄主來源不同，來自萵苣之分離株，以及來自咸豐草之分離株個別形成分群現象，而向日葵分離株與萵苣分離株類緣關係較相近 (圖 5)。

討　論

萵苣 (*Lactuca sativa* L.) 為菊科草本葉菜，為全球普遍栽培具經濟重要性之蔬菜 (Pavan *et al.* 2008)，目前田間或實驗室植物至少有 20 餘種病毒可感染萵苣 (Chen *et al.* 1995a)。本研究由病毒純化、接種試驗、血清特性以及病毒全長度基因體之特性分析，並經由美國 ATCC 所購得咸豐草斑紋病毒標準病毒樣品 (BiMoV-PV-165) 所進行之血清特性鑑定結果顯示，萵苣及咸豐草病毒分離株與 BiMoV-PV-165 是相同病毒的不同系統，也顯示台灣栽培之萵苣已受此病毒之感染，引起黃化嵌紋病徵，嚴重時並引起植株矮化等生育不良之徵狀 (圖 2A)。除了 BiMoV，台灣有紀錄之萵苣病毒包括萵苣嵌紋

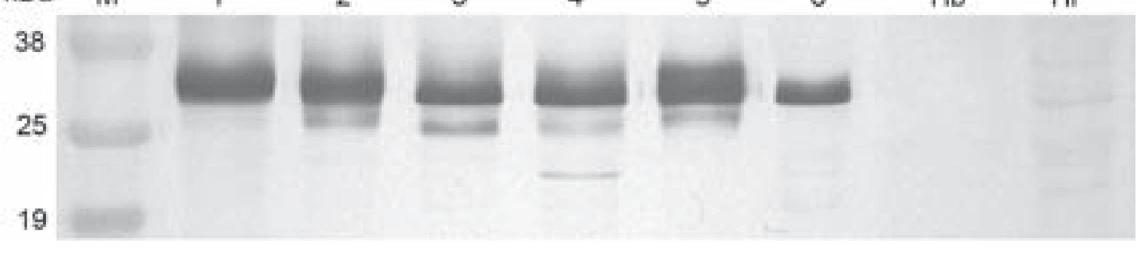


圖 4. 對應 BiMoV-WF 分離株之多元抗體於西方轉漬法中檢測不同分離株之結果。

Fig. 4. Results of the antiserum against BiMoV-WF reacted with various isolates of BiMoV in western blot for detecting BiMoV in infected plant tissues. Lane M, protein marker; lane 1, BiMoV-SF-1-infected leaf tissue of *Chaenopodium quionoa*; lane 2, BiMoV-WF-infected lettuce tissue; lane 3, BiMoV-HL-infected lettuce tissue; lane 4, BiMoV-B4-infected bidens tissue; lane 5, ATCC typical isolate of BiMoV-PV-165 infected *Nicotiana benthamianum* tissue; lane 6, BiMoV-PV-165-infected *C. quionoa* tissue; lane Hb and Hl, the healthy tissues of bidens and lettuce, respectively. Samples were reacted with the 1000× -diluted antiserum to BiMoV WF isolate (As 161).

表 1. 不同 *Bidens mottle virus* 分離株之基因體序列相同度比較
Table 1. Comparative identities of genomic sequences of various isolates of *Bidens mottle virus*

	% identity			
	Polyprotein		Coat protein	
Virus isolates	nt	aa	nt	aa
NC_014325 (SF-1) [z]	100	100	100	100
EU250213 (WF) [z]	98.0	98.4	98.1	99.3
EU250214 (HL) [z]	98.0	98.4	98.3	99.3
EU250212 (B3) [z]	97.0	97.9	98.4	98.1
EU250211. (B4) [z]	98.0	98.3	98.3	98.9
EU250210 (B12) [z]	98.0	98.5	98.3	98.9
HQ117871 (TwCal)	NA [x]	NA	98.3	98.9
PVY-EF026074 [y]	63.8	62.4	74.0	69.4
SuCMoV-AF255677 [y]	NA	NA	71.0	69.2
SuCMoV-AY344048 [y]	NA	NA	73.0	69.7
BiMV-AY960150 [y]	NA	NA	73.1	68.8
BiMV-AY960151 [y]	NA	NA	72.5	68.9

[z] BiMoV isolates collected in Taiwan, NC_014325 is sunflower isolate, EU250210, EU25011, EU250212 are bidens isolates, EU250213 and EU250214 are lettuce isolates.
[y] PVY, *Potato virus* Y; SuCMoV, *Sunflower chlorotic mottle virus* (Dujovny *et al.* 2000); BiMV, *Bidens mosaic virus* (Inoue-Nagata *et al.* 2006).
[x] NA, No analized.

病毒 (*Letucce mosaic virus*) (Chen *et al.* 1995b) 及萵苣捲葉嵌紋病毒 (Lettuce leafroll mosaic caulimovirus-like) (Chen & Chen 1994) 未知之球形病毒 (Chen *et al.* 1995a)。

BiMoV 寄主範圍廣泛，雜草中如咸豐草為其寄主之一 (Purcifull & Zittler 1971, 1973)，寄主接種試驗中顯示分離自萵苣、向日葵及咸豐草之 BiMoV 分離株，在不同寄主間均有感染性。而咸豐草廣泛分佈於田野各處，本研究結果中顯示分離自咸豐草之 BiMoV 分離株可感染萵苣造成病徵，顯見 BiMoV 存在田間咸豐草上對於作物栽培的感染風險。記錄上本病毒能透過蚜蟲傳播 (Zittler 1976)，由本研究之鞘蛋白核酸分子結果顯示 BiMoV 具有與蚜蟲傳播關聯的 DAG triplet 得到印證，因此在防除 BiMoV 感染萵苣的策略上，蚜蟲及雜草的防除均是重要關鍵之一。唯田間媒介蚜蟲與雜草中間寄主種類之鑑定，值得後續進一步研究，而本研究所揭示的血清學及分子生物學診斷方法洽可應用在後續之研究。

BiMoV 其病毒分子與血清特性早於 1968 年即被鑑定與確認，以及此病毒在田間之殘存、雜草寄主、與對萵苣栽培之影響均有明確的記載重要性 (Orsenigo & Zitter 1971; Purcifull & Zittler 1971)。繼 Liao *et al.* (2009) BiMoV 向日葵分離株之後，首度完成 BiMoV 萵苣與咸豐草分離株之病毒全長度基因體之定序，根據病毒全長度基因體定序分析結果顯示，由向日葵、萵苣與咸豐草所得之病毒分離株，其基因體結構與特性相類似，5' 終端及基因體表現之病毒蛋白酶切位 (Protease cleavage site) 均相同，並由基因體資料得以進一步釐清 BiMoV 不同分離株間之類緣差異性，其差異性因寄主來源不同而分群，來自萵苣之分離株，以及來自咸豐草之分離株個別形成分群現象 (圖 5)。自然界同時可感染咸豐草及萵苣之病毒尚有咸

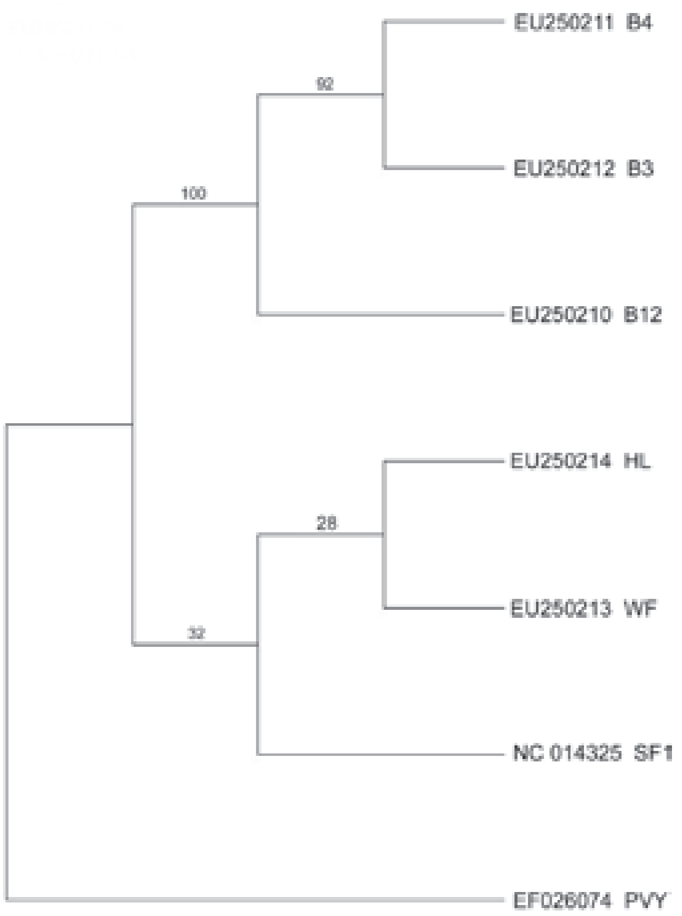


圖 5. 六個 BiMoV 分離株基因體全長度類緣關係之分析。

Fig. 5. A phylogram derived from the analysis of genetic distances based on the amino acid sequences of complete polyprotein of six isolates of BiMoV. The tree was constructed using the neighbor-joining (NJ) algorithm with the bootstrap re-sampling method (1000 random re-samplings), and analysis by PAUP 4.0. Numbers at each node indicate the percentages of bootstrap samples. Horizontal branch length is drawn according to the scale bar indicating 1 substitution per 100 amino acid positions. PVY (EF026074), a *Potato virus Y* genome, was used as an outgroup element.

豐草嵌紋病毒 (*Bidens mosaic virus*, BiMV) (Inoue-Nagata *et al.* 2006; Pavan *et al.* 2008; Suzuki *et al.* 2009)，本研究針對病毒核酸序列分析比對結果顯示 BiMoV 及 BiMV 二者間鞘蛋白胺基酸序列相同度低於 70%，此在 *Potyvirus* 屬病毒之分類上確實屬於不同之病毒 (Ward *et al.* 1992; Adams *et al.* 2005)。

本研究所製備之 BiMoV 抗血清，可實用於 ELISA、西方轉漬法及 SDS-免疫擴散法等檢測，能有效地檢測 BiMoV 病毒的發生。目前國內尚未有 BiMV 之發生報告，本研究由萵苣及咸豐草所獲得之 BiMoV 病毒、檢測試劑及其核酸序列資料將可作為此等病毒之鑑定比對依據，更有助於未來國內對於 BiMoV 發生與其生態的瞭解，對於 BiMoV 在台灣危害之風險將可提供實際的應用性。

引用文獻 (Literature cited)

Adams, M. J., J. F. Antoniw, and C. M. Fauquet. 2005. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. Arch Virol. 150:459–479.

Atreya, P. L., C. D. Atreya, and T .P. Pirone. 1991. Amino acid substitutions in the coat protein result in the loss of insect transmissibility of a plant virus. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88:7887–7891.

Baker, C. A., I. Kamenova, R. Raid, and S. Adkins. 2007. *Bidens mottle virus* identified in tropical soda apple in Florida. Plant Dis. 91:905.

Baker, C. A., R. N. Raid, and B. T. Scully. 2001. Natural infection of *Vicia faba* by *Bidens mottle virus* in Florida. Plant Dis. 85:1290.

Baker, C. A., E. N. Rosskopf, M. S. Irey, L. Jones, and S. T. Adkins. 2008. *Bidens mottle virus* and *Apium virus Y* identified in *Ammi majus* in Florida. Plant Dis. 92:975.

Chang, C. A., D. E. Purcifull, and E. Hiebert. 1988. Purification, characterization, and immunological analysis of nuclear inclusions induced by bean yellow mosaic and clover yellow vein potyvirus. Phytopathology 78:1266–1275.

Chen, C. C. and C. A. Chang. 1998. Characterization of a potyvirus causing mild mosaic on tuberose. Plant Dis. 82:45–49.

Chen, C. C., H. T. Hsu, Y. H. Cheng, C. H. Huang, J. Y. Liao, H. T. Tsai, and C. A. Chang. 2006. Molecular and serological characterization of a distinct potyvirus causing latent infection in calla lilies. Bot. Stud. 47:369–378.

Chen, C. C., C. H. Huang, J. Y. Liao, T. C. Deng, L. W. Chen, Y. H. Cheng, and C. A. Chang. 2008. Identification of *Bidens mottle virus* infecting lettuce and analysis of its full-length genomic sequence. Plant Pathol. Bull. 17:87–88.

Chen, Y. K. and M. J. Chen. 1994. Lettuce leafroll mosaic- a new lettuce disease caused by caulimovirus-like agent in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 3:209–215.

Chen Y. K., J. S. Huang, and M. J. Chen. 1995a. Mild mosaic of lettuce-a new virus disease in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 4:91–95. (in Chinese with English abstract)

Chen, Y. K., Y. C. Peng, T. M. Chen, and M. J. Chen. 1995b. Diagnosis and serological detection of lettuce mosaic virus (LMV) in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 4:60–68. (in Chinese with English abstract)

Christie, S. R., J. R. Edwardson, and F. W. Zettler. 1968. Characterization and electron microscopy of a virus isolated from bidens and *Lipidium*. Plant Dis. Rep. 52:763–768.

Dujovny, G., T. Sasaya, H. Koganesawa, T. Usugi, K. Shohara, and S. L. Lenardon. 2000. Molecular characterization of a new potyvirus infecting sunflower. Arch. Virol. 145:2249–2258.

Edwardson, J. R. and F. W. Zettler. 1968. Characterization and electron microscopy of a virus isolated from Bidens and Lepidium. Plant Dis. Rep. 52:763–768.

Edwardson, J. R., D. E. Purcifull, R. G. Christie, and S. R. Christie. 1976. Blue lupine, a natural host for Bidens mottle virus. Plant Dis. Rep. 60:776.

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39:783–791.

Huang, C. H. and F. J. Jan. 2011. First report of *Bidens mottle virus* infecting Calendula in Taiwan. Plant Dis. 95:362.

Inoue-Nagata, A. K., P. A. Oliveira, L. S. Dutra, and T. Nagata. 2006. Bidens mosaic virus is a member of the *Potato virus* Y species. Virus Genes 33:45–49.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T-4. Nature 227:680–685.

Liao, J. Y., C. A. Chang, C. C. Chen, and T. C. Deng. 2001. Isolation and identification of a virus causing sumflower chlorotic spots in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 10:173–180.

Liao, J. Y., C. C. Hu, C. C. Chen, C. A. Chang, and T. C. Deng. 2009. Full-length sequence analysis of a distinct isolate of *Bidens mottle virus* infecting sunflower in Taiwan. Arch. Virol. 54:723–725.

Logan, A. E., F. W. Zettler, and S. R. Christie. 1984. Susceptibility of Rudbeckia, Zinnia, Ageratum, and other bedding plants to Bidens mottle virus. Plant Dis. 68:260–262.

Maritan, A. C., J. O. Gaspar, and L. E. A. Camargo. 2004. Identification and characterization of a potyvirus isolated from *Zinnia elegans*. Fitopatol. Bras. 29:24–29.

Orsenigo, J. R. and T. A. Zitter. 1971. Vegetable virus

problems in south Florida as related to weed science. Proc. Fla. State Hort. Soc. 84:168–171.

Page, R. D. 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computer. Comput. Appl. Biosci. 12:357–358.

Pappu, S. S., H. R. Pappu, C. A. Chang, A. K. Culbreath, and J. W. Todd. 1998. Differentiation of biologically distinct peanut stripe potyvirus strains by a nucleotide polymorphism-based assay. Plant Dis. 82:1121–1125.

Pavan, M. A., R. Krause-Sakate, N. da Silva, F. M. Zerbini, and O. Le Gall. 2008. Virus diseases of lettuce in Brazil. Plant Viruses 2:35–41.

Purcifull, D. E. and D. L. Batchelor. 1977. Immunodiffusion Tests with Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)-Treated Plant Viruses and Plant Viral Inclusions. Agricultural Experiment Stations, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Gainesville. 39 pp.

Purcifull, D. E., S. R. Christie, T. A. Zitter, and M. J. Bassett. 1971. Natural infection of lettuce and endive by bidens mottle virus. Plant Dis. Rep. 55:1061–1068.

Purcifull, D. E. and T. A. Zitter. 1971. Virus diseases affecting lettuce and endive in Florida. Proc. Fla. State Hort. Soc. 84:165–168.

Purcifull, D. E. and T. A. Zitter. 1973. A serological test for distinguishing Bidens mottle virus and lettuce mosaic viruses. Proc. Fla. State Hort. Soc. 86:143–145.

Stace-Smith, R. and J. H. Tremaine. 1970. Purification and composition of potato virus Y. Phytopathology 60:1785–1789.

Suzuki, G. S., R. A. C. Rosa, M. M. Sanches, D. N. Nozaki, M. A. Pavan, and R. Krause-Sakate. 2009. Characterization of an isolate of *Bidens mosaic virus* (BiMV) from lettuce. Summa phytopathol. 35:231–233.

Swofford, D. L. 1998. PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 4. Sinauer Associates. Sunderland. 130 pp.

Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, and D. G. Higgins. 1997. The CLUSTAL-X windows interface: flexibel strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res. 25:4876–4882.

Tomimura, K., A. J. Gibbs, C. E. Jenner, J. A. Walsh, and K. Ohshima. 2003. The phylogeny of *Turnip mosaic virus*; comparisons of 38 genomic sequences reveal a Eurasian origin and a recent ‘emergence’ in east Asia. Mol. Ecol. 12:2099–2111.

Ward, C. W., N. M. McKem, M. J. Frenkel, and D. D.Sbukla. 1992. Sequence data as the major criterion for potyvirus classification. p.283–297. *in*: Potyvirus Taxonomy (Barnell, O. W., ed.) Springer. New York. 400 pp.

Wisler, G. C. 1984. Bidens Mottle Virus of Bedding Plants. Plant Pathol. Circular No. 262. Fla. Dept. Agric. & Consumer Services. Tallahassee. 2 pp.

Youssef, F., A. Marais, and T. Candresse. 2007. Partial genome sequence of *Bidens mottle virus* sheds light on its taxonomy. Arch. Virol. 153:227–228.

Zitter, T. A. 1976. Viruses Affecting Florida Vegetables: Lettuce and Endive, Description No. 1 Bidens Mottle Virus, Circular S-238. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville. 4 pp.

Zurawski, D. B., D. E. Purcifull, and J. J. McRitchie. 1980. Bidens Mottle Virus of Fittonia verschaffeltii. Plant Pathol. Circular No. 215. Fla. Dept. Agric. & Consumer Services. Tallahassee. 2 pp.

Bidens mottle virus Infecting Lettuce in Taiwan: Identification and Sequence Analysis of Full-Length Viral Genome

Chin-Chih Chen[2,3], Ting-Chin Deng[2], Chun-Huei Huang[2], Bi-Yun Lin[2], and Jye-Yann Liao[2]

Abstract

Chen, C. C., T. C. Deng, C. H. Huang, B. Y. Lin, and J. Y. Liao. 2012. *Bidens mottle virus* infecting lettuce in Taiwan: identification and sequence analysis of full-length viral genome. J. Taiwan Agric. Res. 61:209–221.

A virus isolate-WF was isolated from lettuce leaves that exhibit yellowing mosaic. WF isolate was positively reacted with potyvirus-specific monoclonal antibody. A 1.3-kb DNA fragment was amplified from RNA of WF isolate with the potyvirus-degenerate primer pair (HRP-5/Oligo-dT$_{(14)}$) by reverse transcription- polymerase chain reaction (RT-PCR). The identity of deduced amino acid sequence of coat proteins of WF isolate to that of *Bidens mottle virus* sunflower isolate SF-1 (GenBank Acc. NC_014325) was 99.3%. When the antiserum against purified virions of WF isolate was used in SDS-immunodiffusion, identical immunoprecipitation reaction was generated between lettuce isolates WF and the typical isolate of BiMoV (ATCC PV165). WF isolate could be recognized as a strain of BiMoV based on the results of the molecular and serological characterizations. Another lettuce isolate (HL) from Hualien and three isolates from *Bidens pilosa* (B3, B4, B12) were also serologically identical to isolate of BiMoV-PV165 and the identity in amino acid sequences of viral coat proteins were 97%. Full-length of genomic RNAs of BiMoV-WF, HL, B3, B4, and B12 were sequenced depossited into GenBank (accession numbers EU250213, EU250214, EU250212, EU250211, and EU25021, respectively). The phylogenetic analyses based on the deduced amino acid sequences of the full polyproteins with those of different BiMoV isolates revealed that isolates from the same host was classified into the same group. This is the first report of the full-length genomic sequence and molecular characterization of BiMoV infecting lettuce and bidens.

Key words: *Bidens mottle virus*, Lettuce, Full-length genomic sequences.

---

1. Contribution No. 2681 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: June 18, 2012.
2. Respectively, Assistant Researcher, Researcher, Research Assistant, Research Assistant, and Assistant Researcher, Plant Pathology Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: chinzue@tari.gov.tw; Fax: (04)23302803.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 61(3):222–240 (2012)

抽穗至收穫期間氣象變因對水稻米質 (TNG 71) 之影響[1]

何佳勳[2] 楊純明[2,3] 蕭巧玲[2] 賴明信[2]

摘　要

何佳勳、楊純明、蕭巧玲、賴明信。2012。抽穗至收穫期間氣象變因對水稻米質 (TNG 71) 之影響。台灣農業研究 61:222–240。

為探討抽穗至收穫之穀粒充實期間氣象環境變化對稻米品質的效應，以釐清影響米質的關鍵生育期主要氣象變因之作用及其影響，本研究以良質稻種台農 71 號 (TNG 71) 為試料，在台中市霧峰區的行政院農業委員會農業試驗所農場進行多個栽植期的田間試驗。研究期間自 2006 年 12 月起至 2009 年 8 月止總計 41 個栽植期，累加各栽植期自抽穗至收穫所量測的日均溫 (ADMAT)、日最高溫 (ADMAXAT)、日最低溫 (ADMINAT)、日照時數 (ADSH) 與日射量 (ADIR) 等五項氣象因子測值，以分析此五個氣象變因對米質的影響。又將 41 個栽植期劃分兩部分，其一為 1 月至 6 月的上半年，共有 22 個栽植期，其二為 7 月至 12 月的下半年，計有 19 個栽植期，藉以進一步分析上、下半年氣象因子對米質的差異影響。經由相關矩陣分析結果，此 5 項計算累加值的氣象變因兩兩之間皆為顯著相關，上半年之此 5 項氣象變因之間泰半具有較高的相關係數，顯示試驗期間上半年的氣象變因之間具有較密切之連結。對於影響米飯食味品質的米粒化學組成與外觀品質，其與 41 個栽植期的氣象變因之相關性分析顯示，糙米的粗蛋白質含量與此 5 項氣象變因皆呈顯著正相關，其游離脂肪酸則與 ADMAXAT 及 ADSH 呈顯著正相關；而白米的粗蛋白質含量與 ADMAT、ADMAXAT 及 ADSH 呈顯著正相關，其直鏈性澱粉與 ADMINAT 則呈顯著負相關，白米的白度與 ADMAT、ADMAXAT、ADSH 及 ADIR 等氣象變因具有顯著負相關，其透明度則與此 5 項氣象變因均呈極顯著負相關。白米的完整粒比例與 ADMAT、ADMAXAT、ADMINAT 及 ADSH 等氣象變因之間為顯著負相關，其非完整粒比例則與 ADMAT 及 ADMINAT 為顯著正相關。穀粒的粒長與 ADIR 呈顯著負相關，粒厚則與 ADIR 呈顯著正相關。除白米粗蛋白質含量、穀粒長度及穀粒長/穀粒寬之比值之外，概以上半年較下半年具有較高相關程度。由多元線性迴歸分析結果，建立米粒化學組成及物理特性與氣象變因之間的三元線性迴歸方程式，發現概以 ADMINAT、ADSH 及 ADIR 乃影響本試區米粒化學組成及物理特性的 3

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2686 號。接受日期：101 年 6 月 28 日。
2. 本所作物組助理研究員、研究員、助理研究員、副研究員。台灣　台中市。
3. 通訊作者，電子郵件：cmyang@tari.gov.tw；傳真機：(04)23317118。

項最主要氣象變因。綜合試驗結果，顯見良質稻種台農 71 號於抽穗至收穫期間的氣象因子變化將會影響米粒的化學組成及物理特性，各項米質性狀各有其不同的主要影響氣象變因與權重。為求穩定稻米品質勢必篩檢合適的栽植地區或栽植期，藉由選擇穩定的栽植期氣象環境來減緩氣象變因的負作用或調適氣候變遷的負面影響。

關鍵詞：米質、氣象變因、關鍵生育期、化學組成、物理特性。

前　　言

稻米為國人傳統主食，水稻 (*Oryza sativa* L.) 亦為我國主要及栽種面積最廣的糧食作物；行政院農業委員會 2010 年的「農業統計年報」(COA 2010) 顯示，當年稻作栽培面積約 244,000 ha，稻穀年產量 1,450,000 t，每公頃產量近 6 t。隨著社會發展和生活水準提升，國人日常飲食已由吃得飽、吃得好進至吃得健康與安全的境界，因此近年來農政部門及農業試驗研究單位已將水稻的生產目標從高產量轉進為高品質，希望兼顧稻米生產質量的穩定，注重栽培環境的效應並改進相關栽植技術，在氣候快速的變遷及暖化趨勢下力求糧食安全供應。

稻米品質涵括米粒外觀物理特性、內在化學組成及烹調適口性等三大面向，這些因素均將影響米粒品質、米飯口味及營養價值。通常米粒外觀物理特性包括粒形、一致性、光澤亮度的透明度 (transparency) 及白堊值程度 (白度；whiteness) 等，內在化學組成牽涉蛋白質、脂肪酸、澱粉、維生素與礦物質等營養成分及熱量供應，而烹調的適口性則依據味覺、米飯質地、香氣、黏性及光澤等決定 (Kim *et al.* 1994; Hong *et al.* 2000a; Hsu *et al.* 2000; Choi 2002)。一般粒形多指米粒大小 (外貌) 及外觀性狀 (碾米品質)，前者常以粒長、粒寬、粒厚及粒長與粒寬的比例表示，後者區分為死米粒 (dead grains)、完整粒 (head grains) 及非完整粒 (non-head grains) 三大類，而非完整粒又可再分為青米粒 (green mature grains)、被害粒 (damaged grains)、白堊質粒 (chalky grains)、未熟粒 (immature grains)、變色粒 (discolored grains) 及胴裂粒 (fissure and cracked grains) 等各種類別。米粒的化學組成在糙米及白米並不相同，稻穀去殼後之糙米以直鏈性澱粉 (amylose)、粗蛋白質 (crude protein)、游離脂肪酸 (free fatty acid) 為主要化學成分；糙米碾白除糠後之白米，則以直鏈性澱粉與粗蛋白質為主。研究指出稻米中具有較高食味品質者，其蛋白質含量、膠質黏度 (consistency viscosity) 及回升黏度 (setback viscosity) 較低，而破碎黏度 (breakdown viscosity) 及凝膠展延性 (gel consistency) 較高 (Kim 2009)。

除了遺傳形質之外，水稻生育過程中的肥培、灌溉、溫度及病蟲草害等環境因素都會影響稻米品質，例如水稻穀粒之變色粒形成即可能因為蟲害及黑穗病造成 (Lee *et al.* 1993; Gravois & Bernhardt 2000)。Krishnan & Rao (2005) 研究指出，水稻穀粒之滲透導度、壽命潛力、發芽百分比及變色粒的比例等皆受環境溫度的影響；穀粒成熟時期遭遇高溫時，易使穀粒充實速率變快而縮短有效充實期，因而導致心腹白比例增加、直鏈澱粉含量減少及穀粒重量下降等現象，從顯微構造上可見心腹白米的澱粉粒堆積較為鬆散 (Yamakawa *et al.* 2007)。然而，若處於低溫環境，則未熟粒、青米粒、死米粒及畸形粒的比例將明顯增加，且提高 granule-bound starch synthase (GBSS) 酵素活

性，進而增加胚乳中直鏈澱粉含量 (Huang & Lur 2000; Ahmed *et al.* 2008)。另有研究顯示，夜間溫度上升速率高於白天，將嚴重影響水稻產量，當夜溫增加 1℃ 會造成產量下降約 10% (Kukla & Karl 1993; Easterling *et al.* 1997; Peng *et al.* 2004)。亦有文獻資料指出，提高夜間溫度將會降低水稻完整粒的生產量、稻穗的質量及直鏈澱粉含量，長鏈的支鏈澱粉比例則會增加 (Ziska & Manalo 1996; Counce *et al.* 2005; Cooper *et al.* 2006; Cooper *et al.* 2008)。很不幸的，根據大氣循環預測模式的推測資料，2090–2099 年的全球平均溫度將會提高 1.8–4℃ (IPCC 2007)，吾人將必須及早針對溫度的升高趨勢進行因應、謀求解決對策。

蛋白質含量係稻米營養價值的重要成分，其含量高低與米飯食味品質密切相關，高蛋白質含量將降低米飯的黏性與彈性，卻增加米粒的硬度。因此，過高的蛋白質含量，將使米飯食味品質轉差 (Zhang *et al.* 2001; Shen *et al.* 2003)。一般稻穀中粗蛋白質含量約占 5–12%，其中 90% 以上為貯藏性蛋白質，組成包含白蛋白 (albumins)、球蛋白 (globulins)、穀蛋白 (glutelins) 及醇溶蛋白 (prolamines) 等。當米粒中的醇溶蛋白含量升高時，米飯的外觀、香味、口感、黏度及食味等將轉差，且不易被人體腸胃所消化 (Ogawa *et al.* 1987; Hong *et al.* 2000b)。Tamaki *et al.* (1989) 研究發現，水稻穀粒成熟期的環境溫度會影響穀粒蛋白質含量，在高溫下蛋白質含量會提高而低溫下則會降低。此外，稻株生育中的氮肥管理亦會影響穀粒蛋白質含量，其中蛋白質含量與糊化溫度 (gelatinization temperature) 會隨氮肥施用量增加而增加 (Akram *et al.* 1985; Petroudi *et al.* 2011)。稻米中約有 80% 蛋白質分布於胚乳外層，且含量由糠層往胚乳內層逐漸遞減，所以碾白程度會影響米粒蛋白質含量 (Zhou *et al.* 2009)，在完全碾白的精米粒蛋白質含量甚低。

由孕穗至抽穗開花期及隨後的穀粒充實期乃稻株對高溫較為敏感的生育階段，其中穎花會隨發育進展對於溫度環境有著不等的敏感反應，在高夜溫環境下穎花的不稔率 (spikelet sterility) 將會增加，且減少花粉的發芽百分比 (pollen germination percentage) (Zakaria *et al.* 2002; Mohammed & Tarpley 2010)。高溫環境下水稻平均穀粒重量將會減少，肇因於高夜溫加速呼吸作用的耗損，使得葉片及莖桿中的碳水化合物供應至穎花中不足，且暴露於高溫的稻穗易造成不稔現象 (Hirai *et al.* 2003; Morita *et al.* 2004)。環境因子除了溫度之外，光照亦會影響水稻產量與品質。例如，研究顯示水稻於穀粒充實期間之溫度高或低於最適溫度時，稻米的白堊質數量將會增加，若再處於低光照強度，穀粒充實將延緩並降低稻穗下位分支穀粒的充實百分比 (Yoshida & Hara 1977)。Nagarajan *et al.* (2010) 的研究結果也證實，日射量與水稻產量、收穫指數 (harvest index)、穎花稔實率及穀粒重量均呈現正相關。Yang (1994) 之研究亦指出，在無缺水逆境的情況下，稻穀產量與全生育期的累加日射量及累加日均溫之間具有正相關。

綜合前述文獻報告，可歸結出稻米品質將會受到氣象環境的影響，尤其在抽穗至收穫之間的穀粒充實時期更是決定產量與米質的關鍵時期。本文研究遂在近三年期間內進行 41 個水稻栽植期試驗，以探討此一穀粒充實期間氣象環境變化對稻米品質的效應，並以釐清影響米質的關鍵生育期主要氣象變因之作用及其影響。

材料與方法

田間栽培及各栽植期

本研究於台中市霧峰區之行政院農業委員會農業試驗所農場實施田間栽培試驗，試

驗期間自 2006 年 12 月起至 2009 年 8 月止共計進行 41 個栽植期 (作季)，參見表 1。由抽穗至收穫所經歷的穀粒充實日數從最短的 37 日至最長的 99 日，平均 50.3 日。選用良質稻種台農 71 號 (TNG 71) 為試材，並於水稻抽穗至收穫之間分別收集鄰近農業試驗所一級農業氣象測站之日均溫 (DMAT)、日最高溫 (DMAXAT)、日最低溫 (DMINAT)、日照時數 (DSH) 及日射量 (DIR) 等五項氣象因子之測值，並計算 41 個栽植期之每個栽植期在此期間累加測值，獲得累加日均溫 (ADMAT)、累加日最高溫 (ADMAXAT)、累加日最低溫 (ADMINAT)、累加日照時數(ADSH) 及累加日射量 (ADIR) 等五項氣象變因。總此 41 個栽植期當中，屬於 1 月至 6 月的上半年計有 22 個移植期，屬於 7 月至 12 月的下半年移植期則共有 19 個栽植期。惟 2007 年 9 月、10 月及 2008 年 9 月栽植期，由於生殖生長期間遭受低溫危害，導致抽穗異常及穀粒不稔而未有產量收穫。

各栽植期之田間栽培採一致性管理作業，將育苗至 3–4 葉齡秧苗以南北向多本植機插於試驗田區，每田區面積為 0.1 ha (50 m × 20 m)。田區土壤呈偏酸性 (pH 5.36)，有機質含量約 2.21%，各栽植期皆施予 4 次化學肥料。基肥施用於插秧前，以台肥 39 號複合肥料 (粒劑，12% N，台灣肥料股份有限公司，高雄市) 施用 200 kg ha^{-1}；第二次肥料施用於插秧後 1–2 週，以台肥硫銨 (粒劑，21% N) 用量 200 kg ha^{-1}；第三次肥料施用於插秧後 3–5 週，以台肥硫銨用量 200 kg ha^{-1}；第四次為穗肥，施用於抽穗前 1–2 週，以台肥 39 號複合肥料用量 200 kg ha^{-1}。在雜草管理方面，插秧後即施用 30 kg ha^{-1} 的 8% 丁拉殺丹粒劑，又於插秧後 3–4 週於第二次肥料施用前實施人工除草一次。病蟲害管理視田間發生情況而定，福壽螺防治以 100 kg ha^{-1} 苦茶粕處理 1–2 次；紋枯病及白葉枯病乃分別施用 3% 維利黴素溶液及 10% 克枯爛可濕性粉劑千倍稀釋液；瘤野螟及二化螟蟲施以 30 kg ha^{-1} 的 6% 培丹粒劑；其他害蟲發生另施用 40% 加保伕水懸劑 1.2 L ha^{-1} 千倍稀釋液。

米質分析

各栽植期皆在達收穫時割取 3 個逢機位置的各 10 m^2 小區產量，以平均值表示。割取的穀粒經 40℃ 烘乾超過 72 小時，於穀粒水分維持在 12–13% 時秤取烘乾穀粒產量，並以此材料進行米質之各項分析 (Hong *et al.* 2000a; Hsiao *et al.* 2009)。穀粒形態之調查，係逢機選取 40 顆穀粒並以 5 倍放大測量器 (model 66-SII enlarger, LPL Co. Ltd., Japan) 來量測穀粒之粒長 (grain length) 與粒寬 (grain width)，粒厚 (grain thickness) 乃以標度盤式厚薄計 (model SM540 dial thickness gauge, TECLOCK Co., Japan) 測定。又逢機選取 1000 顆米粒調查米粒外觀性狀，以米粒顏色辨別機 (model RGQ-I20A grain color sorter, Satake Co., Japan) 區分為死米粒 (dead rice)、完整粒 (head rice) 及非完整粒 (non-head rice；包含青米粒、被害粒、白堊質粒、未熟粒、變色粒及胴裂粒等) 等類別，計算其等之數量及百分比。米粒的光澤亮度，以多功能精米碾白計 (model MM1C milling meter, Satake Co., Japan) 測量米粒之透明度及白度。米粒之化學組成，以近紅外光米粒測計 (model AN-820 near infrared grain tester, Kett Co., Japan) 分析，經由內建校正曲線估測 型稻糙米之粗蛋白質、直鏈性澱粉及游離脂肪酸和白米之粗蛋白質、直鏈性澱粉等含量。

上列量測性狀皆以平均值表示，其餘試驗資料之統計分析，則利用 SAS 統計軟體 (version 9.1)，本試驗利用相關矩陣分析台農 71 號水稻於抽穗至收穫期間之氣象變數兩兩相關性，且將本試驗收獲米粒/稻穀碾製而成之糙米與白米的化學組成及物理特性與關鍵生育期氣象變因進行相關性分析，以瞭解氣象變因對

表 1. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 41 個栽植期之移植日期、抽穗日期、收穫日期及抽穗至收穫天數

Table 1. Dates of transplanting, heading and harvest and days required from heading to harvest of 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009

Crop	Date of transplanting	Date of heading	Date of harvest	Days from heading to harvest
2nd crop, 2006	12/26/2006	03/27/2007	05/27/2007	62
1st crop, 2007	01/30/2007	04/11/2007	06/03/2007	54
	02/27/2007	05/04/2007	06/19/2007	47
	03/28/2007	05/22/2007	07/09/2007	49
	04/27/2007	06/30/2007	08/12/2007	44
	05/25/2007	07/22/2007	09/09/2007	50
	06/25/2007	08/19/2007	10/11/2007	54
2nd crop, 2007	07/27/2007	09/18/2007	11/06/2007	50
	08/21/2007	10/09/2007	11/29/2007	52
	11/26/2007	03/15/2008	05/12/2008	59
	12/21/2007	04/09/2008	05/20/2008	42
1st crop, 2008	01/16/2008	04/21/2008	06/03/2008	44
	02/04/2008	04/24/2008	06/05/2008	43
	02/19/2008	05/06/2008	06/11/2008	37
	03/06/2008	05/08/2008	06/18/2008	42
	06/19/2008	08/18/2008	10/07/2008	51
2nd crop, 2008	07/08/2008	09/02/2008	10/21/2008	50
	07/23/2008	09/17/2008	11/03/2008	48
	07/23/2008	09/17/2008	11/04/2008	49
	08/06/2008	09/26/2008	11/10/2008	46
	08/21/2008	10/13/2008	12/03/2008	51
	08/21/2007	10/09/2007	11/29/2007	52
	10/21/2008	02/16/2009	05/25/2009	99
	11/26/2008	03/24/2009	05/26/2009	64
	12/24/2008	04/06/2009	05/20/2009	45
	12/24/2008	04/10/2009	06/02/2009	54
1st crop, 2009	01/20/2009	04/17/2009	06/03/2009	48
	01/20/2009	04/17/2009	06/07/2009	52
	02/09/2009	04/23/2009	06/09/2009	48
	02/19/2009	05/05/2009	06/14/2009	41
	02/25/2009	05/09/2009	06/16/2009	39
	03/05/2009	05/14/2009	06/23/2009	41
	03/25/2009	05/28/2009	07/09/2009	43
	04/24/2009	06/22/2009	08/10/2009	50
	05/26/2009	07/21/2009	09/27/2009	69
	06/23/2009	08/17/2009	10/12/2009	57
	06/23/2009	08/19/2009	10/13/2009	56
2nd crop, 2009	07/07/2009	08/28/2009	10/22/2009	56
	07/23/2009	09/15/2009	10/29/2009	45
	08/10/2009	09/27/2009	11/12/2009	47
	08/20/2009	10/07/2009	11/18/2009	43

米質特性的相關性。本試驗亦利用多元線性複迴歸分析所計算的 5 個氣象變因對米質的化學組成及物理特性的影響及其顯著性，以提供變化趨勢之參考。統計繪圖，則使用 SPSS 公司之 SigmaPlot 軟體 (version 10.0)。

結　果

將自 2006 年 12 月至 2009 年 8 月進行之 41 個栽植期氣象資料整理，計算由抽穗至收穫之間量測的 ADMAT、ADMAXAT、ADMINAT、ADSH 及 ADIR 等 5 項氣象變因，其等之相關性如相關矩陣分析結果 (表 2)，此 5 項氣象變因兩兩之間皆呈顯著相關。

將本試驗收穫米粒/稻穀碾製而成之糙米與白米的化學組成與穀粒充實期氣象變因進行相關性分析，發現糙米的粗蛋白質含量與此 5 項氣象變因均呈顯著正相關，其游離脂肪酸含量與 ADSH、ADMAXAT 亦達顯著正相關。白米的粗蛋白質含量與 ADSH、ADMAT 及 ADMAXAT 達顯著正相關，其直鏈性澱粉含量與 ADMINAT 則呈負相關 (表 3)。進一步分析上、下半年資料，以上半年有較多的化學組成與此 5 項氣象變因有關，即上半年氣象環境較可歸納出氣象變因與化學組成之間的連結。

在米粒物理特性方面 (白米之白度、透明度、外觀形狀及米粒大小等)，經由 41 個栽植期及上、下半年之 5 項氣象變數進行相關性分析，發現白米之白度與 ADMAT、ADMAXAT 及 ADIR 之間顯著負相關，與 ADSH 為極顯著負相關，而透明度則與此 5 項氣象變因均呈

表 2. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)、19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期由抽穗至收穫期間的 5 個氣象變因之相關矩陣分析結果

Table 2. Correlation matrix for five climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

Climatic variable	ADMAT [z]	ADMAXAT	ADMINAT	ADSH	ADIR
Pooled data (*n* = 41)					
ADMAT	–	0.992***	0.991***	0.765***	0.890***
ADMAXAT		–	0.968***	0.798***	0.900***
ADMINAT			–	0.728***	0.845***
ADSH				–	0.681***
ADIR					–
Data from crops in the first half year (*n* = 22)					
ADMAT	–	0.998***	0.997***	0.909***	0.862***
ADMAXAT		–	0.992***	0.919***	0.881***
ADMINAT			–	0.892***	0.824***
ADSH				–	0.887***
ADIR					–
Data from crops in the second half year (*n* = 19)					
ADMAT	–	0.994***	0.992***	0.751***	0.932***
ADMAXAT		–	0.974***	0.760***	0.935***
ADMINAT			–	0.738***	0.900***
ADSH				–	0.696***
ADIR					–

[z] ADMAT: accumulated daily mean air temperature; AMDAXAT: accumulated daily maximum air temperature; ADMINAT: accumulated daily minimum air temperature; ADSH: accumulated daily sunshine hours; ADIR: accumulated daily irradiance.

*** significant at 0.001 probability level.

表 3. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)，19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期之抽穗至收穫期間的 5 個氣象變因與糙米及白米化學組成之相關係數

Table 3. Correlation coefficients between different chemical compositions, in brown rice and milled rice, and 5 climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

Chemical component	ADMAT [z]	ADMAXAT	ADMINAT	ADSH	ADIR
Pooled data (n = 41)					
Crude protein$_{br}$ [y]	0.497***	0.486**	0.512***	0.456**	0.352*
Free fatty acid$_{br}$	0.293	0.325*	0.270	0.423**	0.144
Crude protein$_{mr}$	0.336*	0.387*	0.305	0.576***	0.171
Amylose$_{mr}$	-0.279	-0.202	-0.354*	-0.059	-0.169
Data from crops in the first half year (n = 22)					
Crude protein$_{br}$	0.600**	0.589**	0.628**	0.593**	0.335
Free fatty acid$_{br}$	0.476*	0.488*	0.468*	0.350	0.374
Crude protein$_{mr}$	0.415	0.410	0.439*	0.371	0.146
Amylose$_{mr}$	-0.447*	-0.426*	-0.476*	-0.463*	-0.262
Data from crops in the second half year (n = 19)					
Crude protein$_{br}$	0.397	0.384	0.405	0.314	0.373
Free fatty acid$_{br}$	0.079	0.078	0.088	0.138	-0.041
Crude protein$_{mr}$	0.488*	0.475*	0.519*	0.467*	0.318
Amylose$_{mr}$	-0.245	-0.189	-0.303	-0.227	-0.216

[z] ADMAT: accumulated daily mean air temperature; AMDAXAT: accumulated daily maximum air temperature; ADMINAT: accumulated daily minimum air temperature; ADSH: accumulated daily sunshine hours; ADIR: accumulated daily irradiance.

[y] br: brown rice; mr: milled rice.

* significant at 0.05 probability level; ** significant at 0.01 probability level; *** significant at 0.001 probability level.

現極顯著負相關 (表 4)。完整米粒百分比係與 ADMAT、ADMAXAT 及 ADSH 為顯著負相關，與 ADMINAT 為極顯著負相關；非完整米粒與 ADMINAT 達極顯著正相關，與 ADMAT 則顯著正相關。白米之粒長與 ADIR 呈顯著負相關，粒厚與 ADIR 顯著正相關。至於上、下半年分開之資料分析結果，在上半年有較多的米質性狀明顯受到氣象變因影響。下半年資料中僅白米之透明度與 ADMAT、ADMAXAT 及 ADMINAT 呈現顯著負相關，粒厚與 ADIR 為顯著相關 (表 4)。

藉由多元線性複迴歸分析，從 5 項氣象變因中選入 ADMINAT、ADSH 及 ADIR 等 3 項構成對米質的化學組成及物理特性等的各項三元線性迴歸方程式 (表 5)。由表 5 可見，在 41 個栽植期資料中此三個氣象變因與糙米、白米的粗蛋白質含量達極顯著水準 (P < 0.001)，與糙米的游離脂肪酸及白米的直鏈性澱粉亦達顯著性水準 (P < 0.050)。上半年資料中，此 3 項氣象變因可解釋糙米的粗蛋白質含量 (R^2 = 0.606, P < 0.001)、白米的粗蛋白質含量 (R^2 = 0.388, P = 0.028) 及直鏈性澱粉 (R^2 = 0.355, P = 0.044)，下半年資料則僅有白米的粗蛋白質含量達顯著性水準 (R^2 = 0.412, P = 0.042)。

另 41 個栽植期及上半年 22 個栽植期之此 3 項氣象變因，亦可建構評估白米白度及透明度之三元線性迴歸方程式 (表 6)，下半年 19 個栽植期則無此顯著關係 (表 6)。在米粒外觀形狀上，合併栽植期及上半年栽植期資料，此 3 個氣象變因可建構估算完整米粒百分比及非完整米粒百分比之三元線性迴歸方程式 (表 7)，下半年資料則無此效果 (表 7)。在米粒大小部分，僅有合併 41 個栽植期的白米粒長與此 3 項氣象變因可建構三元線性迴歸方程式，

表 4. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)，19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期之抽穗至收穫期間的 5 個氣象變因與白米物理特性之相關係數

Table 4. Correlation coefficients between different physical characteristics of milled rice and 5 climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

Physical characteristic	ADMAT [z]	ADMAXAT	ADMINAT	ADSH	ADIR
Pooled data (n = 41)					
Whiteness	-0.342*	-0.390*	-0.289	-0.454**	-0.327*
Transparency	-0.626***	-0.587***	-0.665***	-0.478**	-0.437**
Ratio of head rice	-0.376*	-0.312*	-0.444**	-0.310*	-0.188
Ratio of non-head rice	0.363*	0.300	0.429**	0.306	0.184
Ratio of dead rice	0.244	0.206	0.290	0.176	0.112
Grain length	-0.198	-0.195	-0.176	-0.011	-0.323*
Grain width	-0.200	-0.190	-0.196	-0.209	-0.272
Grain thickness	0.295	0.283	0.285	0.244	0.394*
Grain length/Grain width	-0.006	-0.013	0.014	0.212	-0.081
Data from crops in the first half year (n = 22)					
$Whiteness_{mr}$	-0.445*	-0.444*	-0.423*	-0.354	-0.555**
$Transparency_{mr}$	-0.730***	-0.710***	-0.750***	-0.669***	-0.562**
Ratio of head $rice_{mr}$	-0.688***	-0.664***	-0.715***	-0.642**	-0.458*
Ratio of non-head $rice_{mr}$	0.715***	0.694***	0.737***	0.691***	0.502*
Ratio of dead $rice_{mr}$	0.261	0.240	0.291	0.156	0.085
Grain length	-0.087	-0.091	-0.068	-0.002	-0.173
Grain width	-0.236	-0.254	-0.210	-0.347	-0.339
Grain thickness	0.336	0.346	0.308	0.371	0.462*
Grain length/Grain width	0.123	0.133	0.120	0.283	0.118
Data from crops in the second half year (n = 19)					
Whiteness	-0.317	-0.343	-0.292	-0.153	-0.279
Transparency	-0.545*	-0.523*	-0.572*	-0.356	-0.428
Ratio of head rice	-0.027	0.013	-0.078	-0.185	0.014
Ratio of non-head rice	-0.037	-0.072	0.008	0.119	-0.064
Ratio of dead rice	0.237	0.194	0.291	0.356	0.147
Grain length	-0.310	-0.302	-0.290	-0.072	-0.434
Grain width	-0.178	-0.162	-0.179	-0.215	-0.242
Grain thickness	0.300	0.299	0.276	0.322	0.461*
Grain length/Grain width	-0.204	-0.215	-0.170	0.208	-0.309

[z] ADMAT: accumulated daily mean air temperature; AMDAXAT: accumulated daily maximum air temperature; ADMINAT: accumulated daily minimum air temperature; ADSH: accumulated daily sunshine hours; ADIR: accumulated daily irradiance.
* significant at 0.05 probability level; ** significant at 0.01 probability level; *** significant at 0.001 probability level.

以及下半年資料白米粒長/粒寬比值的迴歸方程式達顯著性水準，其他均無顯著關係 (表 8)。

其次，為釐清 ADMAT、ADMAXAT 及 ADMINAT 對米粒化學組成之影響走勢，乃繪製糙米粗蛋白質含量、白米直鏈性澱粉含量與其等之迴歸分布圖 (圖 1)。由圖 1 可知，3 項溫度變因皆與糙米粗蛋白質呈極顯性二次曲線正相關，累加溫度的增加促使糙米粗蛋白質含量上升。惟比較此關鍵時期的溫度平均值，僅平均最高氣溫達顯著水準。白米的直鏈性澱粉則與 ADMINAT 呈現顯著二次曲線關係，但是分別與平均日均溫、平均日最高溫及平均日最低溫關係極顯著 (圖 1)。

另一方面，白米白度與 ADSH 為顯著曲

表 5. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)，19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期之抽穗至收穫期間的 3 個氣象變因與糙米及白米化學組成之三元線性迴歸模式

Table 5. The three-variable linear regression models for different chemical compositions of brown rice and milled rice with three climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

	$Y = a + bX_1 + cX_2 + dX_3$ [z]					
Chemical component	a	b	c	d	R^2	*P*
Pooled data (*n* = 41)						
Crude protein$_{br}$ [y]	4.737	0.003	0.003	-0.003	0.308	0.003
Free fatty acid$_{br}$	19.090	0.001	0.007	-0.004	0.230	0.020
Crude protein$_{mr}$	4.878	6.23×10^{-4}	0.010	-0.004	0.426	< 0.001
Amylose$_{mr}$	19.599	-0.002	0.002	0.002	0.248	0.014
Data from crops in the first half year (*n* = 22)						
Crude protein$_{br}$	6.821	0.003	0.011	-0.010	0.606	< 0.001
Free fatty acid$_{br}$	16.319	0.004	-0.006	0.002	0.247	0.155
Crude protein$_{mr}$	5.645	0.002	0.006	-0.007	0.388	0.028
Amylose$_{mr}$	18.472	-0.001	-0.006	0.005	0.355	0.044
Data from crops in the second half year (*n* = 19)						
Crude protein$_{br}$	5.314	0.002	4.68×10^{-4}	2.71×10^{-4}	0.165	0.425
Free fatty acid$_{br}$	20.057	0.002	0.002	-0.003	0.103	0.643
Crude protein$_{mr}$	4.659	0.004	0.002	-0.004	0.412	0.042
Amylose$_{mr}$	19.437	-7.98×10^{-4}	-1.15×10^{-4}	5.84×10^{-4}	0.110	0.615

[z] X_1: accumulated daily minimum air temperature; X_2: accumulated daily sunshine hours; X_3: accumulated daily irradiance.
[y] br: brown rice; mr: milled rice.

表 6. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)，19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期之抽穗至收穫期間的 3 個氣象變因與白米白度及透明度組成之三元線性迴歸模式

Table 6. The three-variable linear regression models for whiteness and transparency of milled rice with three climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

	$Y = a + bX_1 + cX_2 + dX_3$ [z]					
Appearance of milled rice	a	b	c	d	R^2	*P*
Pooled data (*n* = 41)						
Whiteness	48.002	0.005	-0.027	-0.006	0.218	0.026
Transparency	5.087	-0.003	-3.96×10^{-4}	0.002	0.498	< 0.001
Data from crops in the first half year (*n* = 22)						
Whiteness	64.750	-0.007	0.047	-0.045	0.421	0.018
Transparency	5.456	-0.003	-0.002	0.002	0.579	0.002
Data from crops in the second half year (*n* = 19)						
Whiteness	42.719	-0.005	0.007	-0.002	0.096	0.669
Transparency	4.217	-0.002	7.27×10^{-4}	0.001	0.373	0.066

[z] X_1: accumulated daily minimum air temperature; X_2: accumulated daily sunshine hours; X_3: accumulated daily irradiance.

線負相關，與 ADMAT、ADIR 及其等平均值之間則無顯著迴歸關係 (圖 2)。除了 ADMAXAT 之外，完整米粒百分比與 ADMAT 及 ADMINAT 為二次曲線關係，而與 ADMAT、ADMAXAT 及 ADMINAT 之平均值皆為二次曲線變化趨勢 (圖 3)。

表 7. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)，19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期之抽穗至收穫期間的 3 個氣象變因與白米完整米粒、非完整米粒和死米粒組成之三元線性迴歸模式

Table 7. The three-variable linear regression models for head , non-head and dead rice of milled rice with three climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

	$Y = a + bX_1 + cX_2 + dX_3$ [z]					
Integrity of milled rice	a	b	c	d	R^2	*P*
Pooled data ($n = 41$)						
Ratio of head rice	0.942	-8.4×10^{-4}	-1.39×10^{-4}	9.53×10^{-4}	0.323	0.002
Ratio of non-head rice	0.075	7.07×10^{-4}	1.42×10^{-4}	-8.03×10^{-4}	0.299	0.004
Ratio of dead rice	-0.016	1.39×10^{-4}	-5.01×10^{-6}	1.51×10^{-4}	0.146	0.117
Data from crops in the first half year ($n = 22$)						
Ratio of head rice	0.904	-7.49×10^{-4}	-0.001	0.001	0.600	< 0.001
Ratio of non-head rice	0.099	5.71×10^{-4}	0.001	-0.001	0.632	< 0.001
Ratio of dead rice	-0.008	1.77×10^{-4}	-1.32×10^{-4}	-1.77×10^{-4}	0.167	0.338
Data from crops in the second half year ($n = 19$)						
Ratio of head rice	0.752	-2.18×10^{-4}	-6.73×10^{-4}	4.89×10^{-4}	0.087	0.703
Ratio of non-head rice	0.294	1.16×10^{-4}	5.19×10^{-4}	-3.60×10^{-4}	0.062	0.805
Ratio of dead rice	-0.050	1.11×10^{-4}	1.82×10^{-4}	-1.56×10^{-4}	0.211	0.299

[z] X_1: accumulated daily minimum air temperature; X_2: accumulated daily sunshine hours; X_3: accumulated daily irradiance.

表 8. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 22 個 (上半年栽植期)，19 個 (下半年栽植期) 及 41 個 (全年栽植期) 栽植期之抽穗至收穫期間的 3 個氣象變因與白米粒長、粒寬、粒厚和粒長 / 粒寬比值組成之三元線性迴歸模式

Table 8. The three-variable linear regression models for grain size (length, width and thickness) and grain length/grain with ratio of milled rice with three climatic variables calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009, including 22 crops in the first half year and 19 crops in the second half year

	$Y = a + bX_1 + cX_2 + dX_3$ [z]					
Shape of milled rice	a	b	c	d	R^2	*P*
Pooled data ($n = 41$)						
Grain length	7.541	1.26×10^{-4}	7.08×10^{-4}	-9.19×10^{-4}	0.191	0.047
Grain width	3.452	5.55×10^{-5}	-7.61×10^{-5}	-1.88×10^{-4}	0.082	0.362
Grain thickness	2.128	-6.38×10^{-5}	3.90×10^{-6}	3.27×10^{-4}	0.163	0.083
Grain length/Grain width	2.181	5.92×10^{-6}	2.70×10^{-4}	-1.57×10^{-4}	0.139	0.133
Data from crops in the first half year ($n = 22$)						
Grain length	7.799	1.58×10^{-4}	0.002	-0.001	0.146	0.406
Grain width	3.420	1.64×10^{-4}	-5.09×10^{-4}	-1.53×10^{-4}	0.178	0.305
Grain thickness	1.998	-1.00×10^{-4}	-2.63×10^{-5}	6.48×10^{-4}	0.230	0.184
Grain length/Grain width	2.278	-1.44×10^{-4}	8.65×10^{-4}	-2.96×10^{-4}	0.225	0.195
Data from crops in the second half year ($n = 19$)						
Grain length	7.401	2.66×10^{-4}	9.38×10^{-4}	-0.001	0.306	0.130
Grain width	3.438	1.01×10^{-4}	-1.55×10^{-4}	-1.82×10^{-4}	0.077	0.744
Grain thickness	2.211	-2.06×10^{-4}	1.32×10^{-4}	3.54×10^{-4}	0.330	0.102
Grain length/Grain width	2.147	1.78×10^{-5}	3.98×10^{-4}	-2.19×10^{-4}	0.445	0.028

[z] X_1: accumulated daily minimum air temperature; X_2: accumulated daily sunshine hours; X_3: accumulated daily irradiance.

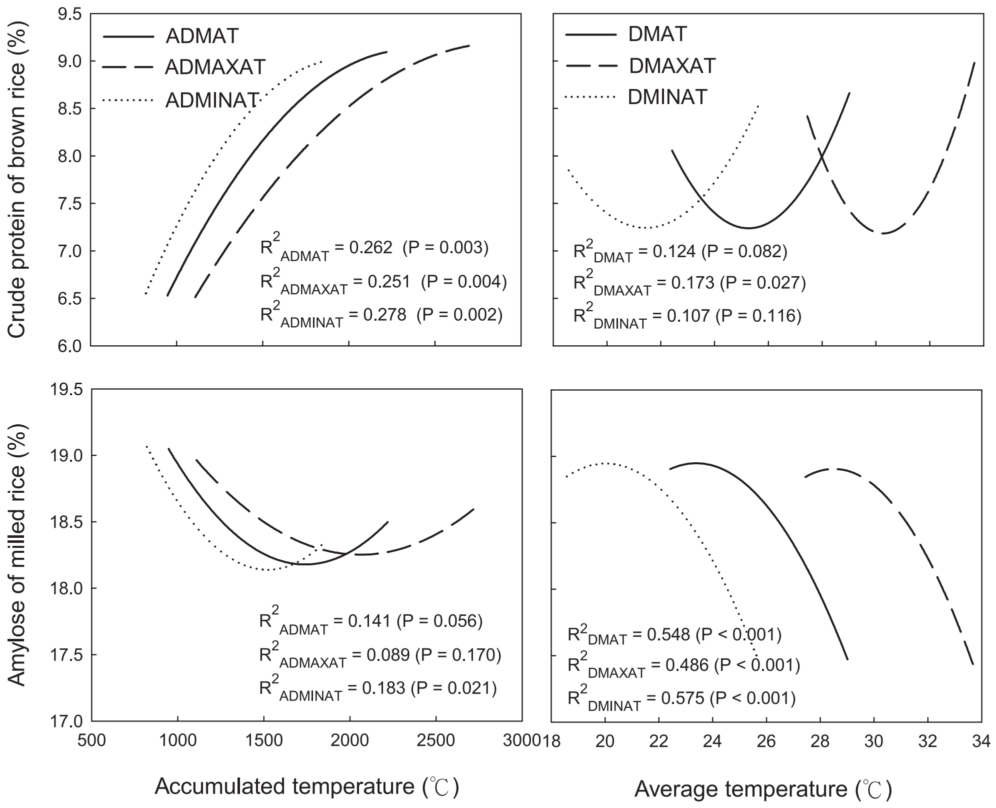


圖 1. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 41 個栽植期之抽穗至收穫期間的累加和平均日均溫、日最高溫及日最低溫與糙米粗蛋白質、白米直鏈性澱粉之迴歸關係。

Fig. 1. Changes of crude protein of brown rice and amylose of milled rice to the accumulated values of daily mean air temperature (ADMAT), daily maximum air temperature (ADMAXAT), and daily minimum air temperature (ADMINAT) and their average values calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009.

討　論

本項研究自 2006 年 12 月起至 2009 年 8 月止總計進行 41 個栽植期的田間試驗，每個栽植期均估算由抽穗至收穫之間穀粒充實期的日數，同時計算 ADMAT、ADMAXAT、ADMINAT、ADSH 及 ADIR 等 5 項氣象變因，並分析各栽植期收獲米粒/穀粒之米質。經由相關矩陣分析結果，由於兩兩氣象變因之間皆顯著相關，顯示氣象變因之間連結緊密。若區分為上、下半年再予分析，以上半年栽植期的氣象變因之間的相關性較高於下半年，可知上半年的氣象環境又較下半年穩定，使得氣象變因之間具有較密切的相關。由於國內一期作產量及品質多優於二期作 (Hsiao *et al.* 2009; Lee *et al.* 2009)，可能較為穩定與規律的氣象環境有其重要與必要性，再對照本試驗米質性狀與氣象變因的關係，可證實穩定氣象環境與水稻米質之間具有較強連結的推測。

繼而將本試驗米粒的化學組成與穀粒充實期之氣象變因進行相關性分析，發現氣象變因確實影響米粒化學組成，一如其他試驗結果 (Tamaki *et al.* 1989)。其中，糙米的粗蛋白

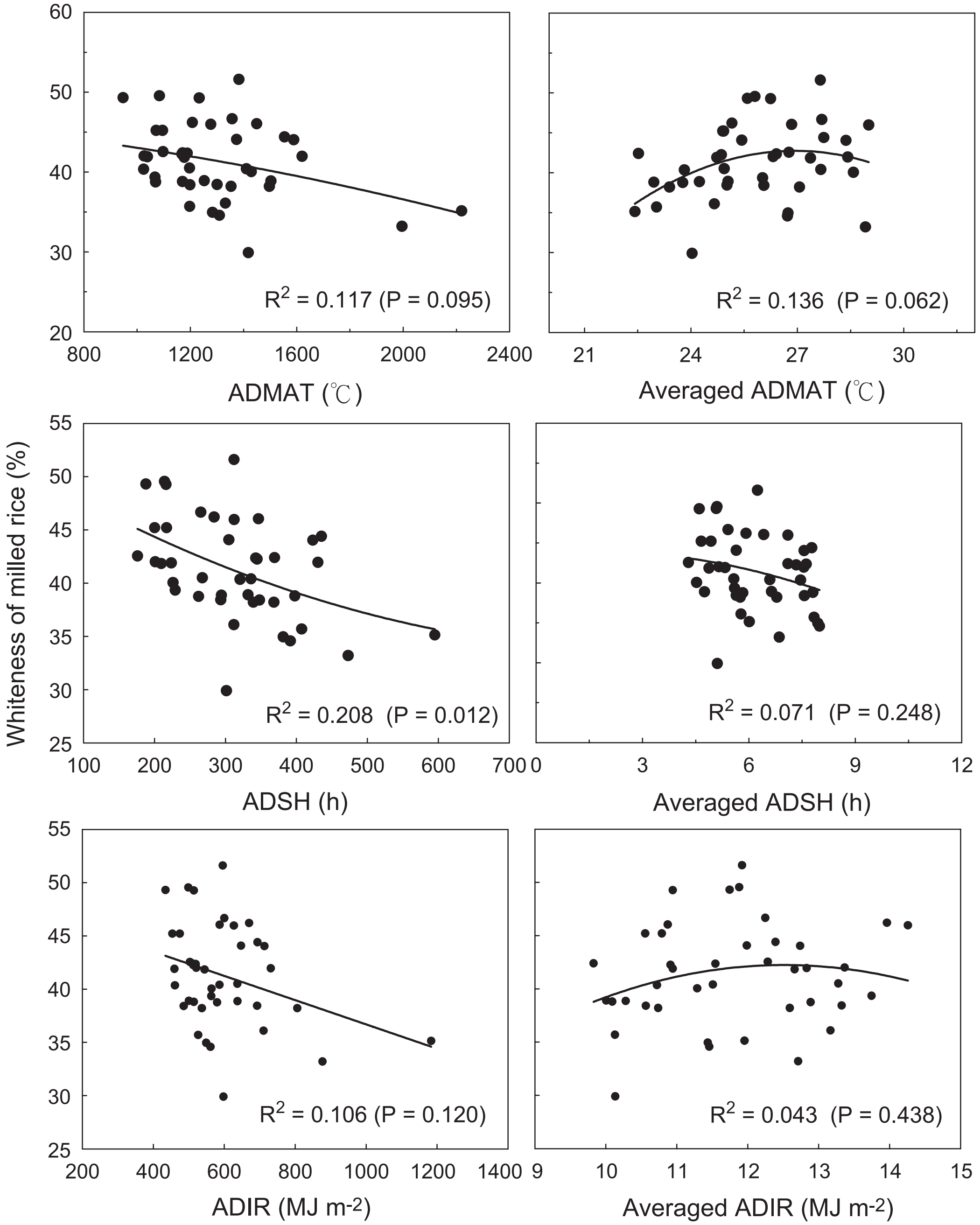


圖 2. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 41 個栽植期之抽穗至收穫期間的累加和平均日均溫、日照時數及日射量與白米白度之迴歸關係。

Fig. 2. Changes of whiteness of milled rice to the accumulated values of daily mean air temperature (ADMAT), daily sunshine hours (ADSH), and daily irradiance (ADIR) calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009.

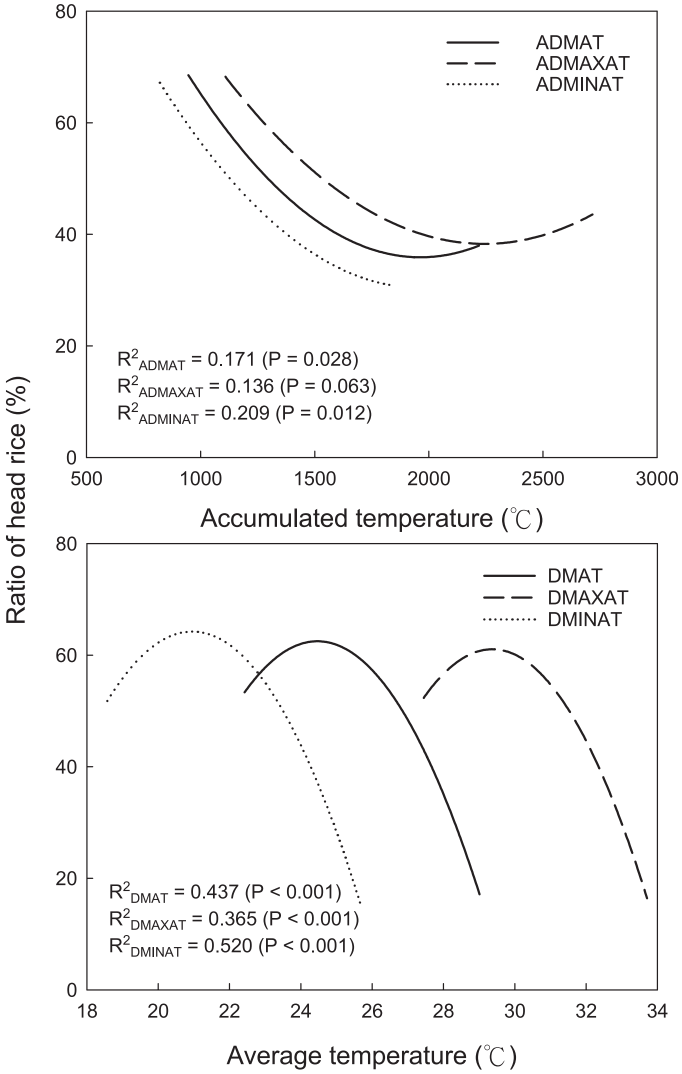


圖 3. 台農 71 號於 2006–2009 年期間合計 41 個栽植期之抽穗至收穫期間的累加和平均日均溫、日最高溫及日最低溫與白米完整粒比率之迴歸關係。

Fig. 3. Changes of head rice of milled rice to the accumulated values of daily mean air temperature (ADMAT), daily maximum air temperature (ADMAXAT), and daily minimum air temperature (ADMINAT) and their average values calculated from heading to harvest in 41 crops of rice cultivar TNG 71 grown in 2006–2009.

質及游離脂肪酸含量與此 5 項氣象變因多存在正向關係，白米的粗蛋白質含量與 ADSH、ADMAT 及 ADMAXAT 為正相關，其直鏈性澱粉含量則與 ADMINAT 為負相關。進一步分析上、下半年資料，顯示化學組成在上半年與此 5 項氣象變因有較高的相關性，驗證了由相對較為穩定的上半年氣象環境較可歸納出氣象變因與米粒化學組成之間的連結；換言之，在穩定的氣象環境中孕育的米粒化學組成和氣象變因之間具有較為規律而緊密的互動關係。

比較米粒物理特性，發現白米的白度及透明度與 ADMAT、ADMAXAT、ADSH 及 ADIR 之間為負相關，完整米粒百分比亦與 ADMAT、ADMAXAT、ADMINAT 及 ADSH 為負相關，而非完整米粒與 ADMAT、ADMINAT 則為正相關。白米的粒長與 ADIR 負相關，粒厚卻為正相關。同樣的，在上半年的栽植期有較多的米質性狀明顯受到氣象變因影響，相關性普遍高於下半年者。文獻報告指出，低溫環境下將延長水稻成熟期，且增加未熟粒、青米粒、青死米粒及畸形粒的比例 (Huang & Lur 2000; Ahmed *et al.* 2008)，一如本試驗負相關的不利結果及過高溫度的負面作用。事實上台灣的上、下半年的氣象環境確有明顯的差異，上半年由低溫到高溫，栽植期會有陰雨連綿的梅雨季，下半年則為高溫到低溫更有颱風、乾旱及秋冬低溫寡日照。本試驗於 2007 年 9 月、10 月及 2008 年 9 月栽植期於生殖生長期受到低溫危害，導致抽穗異常及穀粒不稔而未有產量收穫即是負面案例。

此外，由文獻可知稻株在穀粒充實期間的溫度變化會影響米質特性，如提高夜間溫度會降低完整粒的產量、稻穗的質量及直鏈澱粉含量 (Ziska & Manalo 1996; Counce *et al.* 2005; Cooper *et al.* 2006; Cooper *et al.* 2008)。Nagarajan *et al.* (2010) 的研究指出，日射量與水稻產量、收穫指數、穎花稔實率及穀粒重量等具有正相關。本研究的試驗結果，也反應了氣象變因對於米粒化學組成與物理性狀的潛在影響，由抽穗至收穫之間的穀粒充實期確為改變米質的關鍵時期。另一方面，米粒化學組成及物理特性與氣象變因之兩兩相關性分析達顯著時，相關係數多近於 0.5 以上，惟仍有少部分相關係數較低 (| > 0.31 |)。由此可知，以 37–99 日穀粒充實期的累加氣象變因分析其等與米質參數之相關性，確實存在相當的變異與差異，顯示氣象因子的複雜變化及充實期長短帶來的變異，而且單一氣象變因的影響力有其限度。然而試驗結果至少提供氣象變因對穀粒充實期的影響證據，以及說明此一關鍵時期氣象變化確實與米質有關的佐證。

本研究進一步在計算的氣象變因當中，發現無論是米質的化學組成及物理特性，概可由 ADMINAT、ADSH 及 ADIR 等 3 項氣象變因組成三元線性迴歸方程式予以評估。可知這 3 個氣象變因在 5 項選用變因當中，乃本試驗期間最主要的決定因子，包括糙米與白米的粗蛋白質含量、糙米的游離脂肪酸及白米的直鏈性澱粉均受其等顯著影響。而白米白度與透明度、完整米粒與非完整米粒百分比、白米粒長及白米粒長/粒寬比值等，也可能由此 3 項氣象變因共同解釋。本研究又發現，糙米粗蛋白質含量與這些溫度有關的 3 個變因 (ADMAT、ADMAXAT 及 ADMINAT) 均為二次曲線關係，溫度的累加將會促使糙米粗蛋白質含量上升。白米的直鏈性澱粉與累加日最低溫呈現二次曲線關係，在高溫的栽植期環境下直鏈性澱粉含量將會下降，經直接由關鍵生育期的溫度平均值來看，無論採用何種溫度參數，皆顯示高溫不利於直鏈性澱粉生成 (Krishnan & Rao 2005; Yamakawa *et al.* 2007)。又米粒的白堊質在低溫、弱光照及寡日照時數下似乎有增加趨勢，使得白度上升，尤以日照時數的不足更為明顯 (Yoshida & Hara 1977; Nagarajan *et al.* 2010)，而本研究更發現過高溫度亦將提高白米的白度。再者，由於高溫不利於穀粒充實，本研究亦顯示完整米粒百分比隨著穀粒充實的關鍵生育期溫度上升而降低的現象，一如文獻報告 (Counce *et al.* 2005; Cooper *et al.* 2006; Cooper *et al.* 2008)，而且本研究發現無論由日均溫、日最高溫及日最低溫來觀察皆會有相同結果。

由多元線性複迴歸分析結果，達顯著水準之決定係數 (R^2) 有 9 項 $R^2 < 0.4$，有 9 項 $R^2 >$

0.4。由此可見，決定米質性狀的氣象環境十分複雜，各米質參數可能由超過 3 個以上的氣象變因共同影響，或其他非本文採用之氣象變因亦影響米質。本文研究僅選用 5 項氣象變因，其他變因對於特定米質參數有其特定影響程度，這些非本文研究使用的氣象變因決定特定米質參數的效應可能更高。對於擬利用本文結果推估依變數者，應有認知低 R^2 值代表的意義。其次，即使達顯著之 R^2 不高，至少提供變化趨勢之參考，自有其生理意義。本文研究先以相關分析說明單一氣象變因與米質參數之關係，主要選用與氣溫有關的氣象變因，以初步瞭解溫暖化的潛在影響。另以多元線性迴歸分析來探討這些與氣溫有關氣象變因之綜合影響，可以初探多變因的加成效應。

當前由於氣候的快速變遷及全球暖化趨勢，國人十分重視不同產業受到的各種衝擊，農業部門亦不例外。台灣在過去百年之間氣溫幾乎升高了近 1.4℃，勢將影響國內水稻的生產及稻米的質量，吾人應當更積極探討升溫所帶來各面向的問題。本文研究除了證實關鍵的穀粒充實期間氣象環境對米質的影響之外，更提供溫暖化對米粒化學組成與物理性狀影響機制的實證結果。因此，欲穩定水稻的米質，在選擇合適的栽植稻種及提高稻種的耐逆境能力之外，慎選栽植季節或栽培環境的選項，亦是調適環境變異及氣候變遷的妥適對策。

誌　　謝

本研究承蒙行政院農業委員會科技計畫經費補助 [98 農科-4.2.1-農-C2(1)]，另對於農業試驗所作物組生物統計與生物資訊研究室呂椿棠博士提供統計分析諮詢，作物生理與逆境研究室技工邱顯泉先生協助計畫田間工作執行，特致以由衷謝忱。

引用文獻 (Literature cited)

Ahmed, N., M. Maekawa, and I. J. Tetlow. 2008. Effects of low temperature on grain filling, amylose content, and activity of starch biosynthesis enzymes in endosperm of basmati rice. Aust. J. Agric. Res. 59:599–604.

Akram, M., A. A. Cheema, M. A. Awan, and M. Ahmad. 1985. Effect of planting date and fertilizer level on grain yield and protein content of rice. Pakistan J. Agric. Res. 6:165–167.

Choi, H. C. 2002. Current status and perspectives in varietal improvement of rice cultivars for high-quality and value-added products. Korean J. Crop Sci. 47(S):15–32.

Cooper, N. T. W., T. J. Siebenmorgen, and P. A. Counce. 2008. Effects of night time temperature during kernel development on rice physicochemical properties. Cereal Chem. 85:276–282.

Cooper, N. T. W., T. J. Siebenmorgen, P. A. Counce, and J. F. Meullenet. 2006. Explaining rice milling quality variation using historical weather data analysis. Cereal Chem. 83:447–450.

Counce, P. A., R. J. Bryant, C. J. Bergman, R. C. Bautista, Y. J. Wang, T. J. Siebenmorgen, K. A. K. Moldenhauer, and J. F. Meullenet. 2005. Rice milling quality, grain dimensions, and starch branchingas affected by high night temperatures. Cereal Chem. 82:645–648.

COA, Executive Yuan. 2010. Rice. p.24–35. *in*: Agricultural Statistics Yearbook. COA Pub. Taiwan. 336 pp.

Easterling, D. R., B. Horton, P. D. Jones, T. C. Peterson, T. R. Karl, D. E. Parker, M. J. Salinger, V. Razuvayev, N. Plummer, P. Jamason, and C. K. Folland. 1997. Maximum and minimum temperature trends for the globe. Science 277:364–367.

Gravois, K. A. and J. L. Bernhardt. 2000. Heritability and genotype environment interactions for discolored rice kernels. Crop Sci. 40:314–318.

Hirai, Y., T. Yamadu, and M. Tsuda. 2003. Effects of temperature at ripening period on dark respipercentage and dry matter production in rice- comparison of the effects in the plants sown in pot at different times. Jpn. J. Crop Sci. 72:436–442. (in Japanese with English abstract)

Hong, M. C., A. N. Hsu, and C. F. Li. 2000a. Analysis

of rice quality. p.252–266. *in*: Annual Report of Rice Improvement 2000. Taichung Dist. Agric. Res. Improve. Stn., Changhua. 350 pp. (in Chinese)

Hong, M. C., P. J. Chien, and H. S. Lur. 2000b. The relation between palatability characteristics and glutein and prolamin contents of rice grains. Bull. Taichung Dist. Agric. Res. Ext. Stn. 67:1–10. (in Chinese with English abstract)

Hsiao, C. L., Y. J. Lee, C. M. Yang, and M. H. Lai. 2009. Effects of planting month on rice quality of cultivar TNG 71. Crop Environ. Bioinform. 6:220–232.

Hsu, C. S., K. C. Lu, P. C. Wu, and K. C. Lin. 2000. Study on cultivation practices to improve rice quality. p.162–168. *in*: Annual Report of Rice Improvement 2000. Taichung Dist. Agric. Res. Improve. Stn., Changhua. 350 pp. (in Chinese)

Huang, J. J. and H. S. Lur. 2000. Influences of temperature during grain filling stages on grain quality in rice (*Oryza sativa* L.) 1. Effects of temperature on yield components, milling quality, and grain physico-chemical properties. J. Agric. Assoc. China 1:370–389. (in Chinese with English abstract)

IPCC. 2007. Summary for policymakers. In: climate change 2007: the physical science basis. p.1–18. *in*: Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. (Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor, and H. L. Miller, eds.) Cambridge University Press. Cambridge. 996 pp.

Kim, K. H. 2009. Grain quality improvement in japonica rice: achievements and prospects. J. Agron. Indonesia 37:183–187.

Kim, K. H., S. Y. Cho, H. P. Moon, and H. C. Choi. 1994. Breeding strategy for improvement and diversification of grain quality in rice. Korean J. Breed. 26(S):1–15.

Krishnan, P. and S. A. V. Rao. 2005. Effects of genotype and environment on seed yield and quality of rice. J. Agric. Sci. 143:283–292.

Kukla, G. and T. R. Karl. 1993. Night time warming and the greenhouse effect. Environ. Sci. Technol. 27:1768–1474.

Lee, F. N., N. P. Tugwell, S. J. Fannah, and G. J. Weidemann. 1993. Role of fungi vectored by rice stink bug (*Heteroptera: Pentatomidae*) in discoloration of rice kernels. J. Econ. Ent. 86:549–556.

Lee, Y. J., C. M. Yang, and C. L. Hsiao. 2009. Influence of climatic condtions on production of rice cultivar TNG 71. J. Taiwan Agric. Res. 58:45–54.

Mohammed, A. R. and L. Tarpley. 2010. Effects of high night temperature and spikelet position on yield-related parameters of rice (*Oryza sativa* L.) plants. Europ. J. Agron. 33:117–123.

Morita, S., H. Shiratsuchi, J. Takanashi, and K. Fujita. 2004. Effect of high temperature on ripening in rice plant- analysis of the effects of high night and high day temperatures applied to the panicle and other parts of the plant. Jpn. J. Crop Sci. 73:77–83. (in Japanese with English abstract)

Nagarajan, S., S. V. K. Jagadish, A. S. H. Prasad, A. K. Thomar, A. Anand, M. Pal, and P. K. Agarwal. 2010. Local climate affects growth, yield and grain quality of aromatic and non-aromatic rice in northwestern India. Agric. Ecosyst. Environ. 138:274–281.

Ogawa, M., T. Kumamaru, H. Satoh, N. Iwata, T. Omura, Z. Kasai, and K. Tanaka. 1987. Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. Plant Cell Physiol. 28:1517–1527.

Peng, S., J. Huang, J. E. Sheehy, R. C. Laza, R. M. Visperas, X. Zhong, G. S. Centeno, G. S. Khush, and K. G. Cassman. 2004. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. Proc. Natl. Acad. Sci. 101:9971–9975.

Petroudi, E. R., G. Noormohammadi, M. J. Mirhadi, H. Madani, and H. R. Mobasser. 2011. Effects of nitrogen fertilization and rice harvest height on agronomic yield indices of ratoon rice-berseem clover intercropping system. Aust. J. Crop Sci. 5:566–574.

Shen, P., Q. X. Luo, and Z. X. Jin. 2003. Relationship between protein content and the cooking and eating quality properties of rice grain. J. Northeast Agric. Univ. 34:368–371.

Tamaki, M., M. Ebata, and T. Tashiro. 1989. Physico-ecological studies on quality formation of rice kernel. I. Effects of nitrogen top-dressed at full heading time and air temperature during ripening period on quality of rice kernel. Jpn. J. Crop Sci. 58:653–658.

Yamakawa, H., T. Hirose, M. Kuroda, and T. Yamagu-

chi. 2007. Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related genes under high temperature using DNA microarray. Plant Physiol. 144:258–277.

Yang, C. M. 1994. Response of rice yield in relation to solar radiation and air temperature under soil water deficits. Chinese J. Agromet. 1:27–34.

Yoshida, S. and T. Hara. 1977. Effects of air temperature and light on grain filling of an indica and a japonica rice (*Oryza sativa* L.) under controlled environmental conditions. Soil Sci. Plant Nutr. 23:93–107.

Zakaria, S., T. Matsuda, S. Tajima, and Y. Nitta. 2002. Effect of high temperature at ripening stage on the reserve accumulation in seed in some rice cultivars. Plant Prod. Sci. 5:160–168.

Zhang, G. M., Y. H. Zhang, L. Q. Song, and X. X. Guo. 2001. Elementary introduction about the influences of protein in rice on nutritive value and taste quality. Heilongjiang Agric. Sci. 3:38–39.

Zhou, L. H., Q. Q. Liu, and M. H. Gu. 2009. Milling characteristics and distribution of seed storage proteins in rice with various grain shapes. Acta Agron. Sin. 35:317–323. (in Chinese with English abstract)

Ziska, L. H. and P. A. Manalo. 1996. Increasing night temperature can reduce seed set and potential yield of tropical rice. J. Plant Physiol. 23:791–794.

Effect of Climatic Conditions during Heading to Harvest Stage on Quality of Rice Cultivar TNG 71[1]

Chia-Hsun Ho[2], Chwen-Ming Yang[2,3], Chiao-Ling Hsiao[2], and Ming-Hsing Lai[2]

Abstract

Ho, C. H., C. M. Yang, C. L. Hsiao, and M. H. Lai. 2012. Effect of climatic conditions during heading to harvest stage on quality of rice cultivar TNG 71. J. Taiwan Agric. Res. 61:222–240.

Climatic conditions during heading to harvest stage are important factors affecting quality of rice (*Oryza sativa*). The objective of this study was to determine effects of major climatic variables during the key growth stage from heading to harvest on quality of rice by conducting multiple-year field experiments at the experimental farm of Taiwan Agricultural Research Institute at Wufeng, Taichung, Taiwan, using a widely cultivated variety TNG 71. The variety TNG 71 was grown for a total of 41 crops from December 2006 to August 2009 with 22 crops produced in the first half year and 19 crops produced in the second half year. For each crop season, accumulated values of daily mean air temperature (ADMAT), daily maximum air temperature (ADMAXAT), daily minimum air temperature (ADMINAT), daily sunshine hours (ADSH), and daily irradiance (ADIR) were collected during heading to harvest stage. These five climatic variables were used for analysis of quality traits of rice. Results of correlation matrix analyses showed that correlation coefficients among climatic variables were generally higher in the crop of first half year than those in the crop of second half year, suggesting a more stable climatic environment and hence a closer link between variables in the first half year during the experimental period of 2006–2009. From pooled data, crude protein of brown rice was correlated with all the five climatic variables and free fatty acid content was positively correlated with ADMAXAT and ADSH. In milled rice, crude protein was positively correlated with ADMAT, ADMAXAT and ADSH, while amylose was negatively correlated with ADMINAT. The whiteness of milled rice was negatively correlated with ADMAT, ADMAXAT, ADSH and ADIR, and the transparency of grain kernel was negatively correlated with all the climatic variables. The ratio of head rice was negatively correlated with ADMAT, ADMAXAT, ADMINAT and ADSH, while the ratio of non-head rice was positively correlated with ADMAT and ADMINAT. The grain length was negatively correlated with ADIR, whereas grain thickness was positively correlated with ADIR. Except crude protein, the correlations of length and length width ratio of grains with climatic variables were generally higher in the crop of first half year than in the crop of second half year. Results of multiple linear regression analyses showed that, ADMINAT, ADSH and ADIR were the three major climatic variables accounted for

---

1. Contribution No. 2686 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: June 28, 2012.

2. Respectively, Assistant Researcher, Researcher, Assistant Researcher, and Associate Researcher, Crop Science Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Corresponding author, e-mail: cmyang@tari.gov.tw; Fax: (04)23317118.

variations of chemical and physical components of rice. This study indicates that changes in climatic conditions during the period of heading to harvest are important factors affecting chemical components and physical characteristics of rice grains. Thus, selection of suitable location for cultivation of rice and planting season are some strategies for minimizing negative impacts of climatic factors on rice quality.

Key words: Rice quality, Climatic variable, Key growth stage, Chemical composition, Physical characteristics.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 61(3):241–249 (2012)

叢枝菌根菌與其他微生物在香蕉黃葉病防治之應用 [1]

林素禎 [2,4] 王朝儀 [2] 蘇慶昌 [3]

摘　要

林素禎、王朝儀、蘇慶昌。2012。叢枝菌根菌與其他微生物在香蕉黃葉病防治之應用。台灣農業研究 61:241–249。

香蕉黃葉病 (*Fusarium* wilt) 是目前影響台灣香蕉產業發展之最大限制因子之一。本研究乃利用微生物接種，期能降低香蕉黃葉病之發病率或減輕病害程度。試驗中所使用之微生物為本所自行生產之叢枝菌根菌 *Glomus clarum* Nicolson & Schenck 與另一種市售微生物商品內含兩種菌劑 *Pseudomonas putida* 與 *Trichoderma asperellum*。香蕉組織培養苗由台灣香蕉研究所提供，馴化地點在農業試驗所進行，馴化過程開始於 2009 年 9 月，香蕉組織培養苗在馴化 34 天後接種 *G. clarum*，每株組織培養苗接種 200 個孢子。香蕉組織培養苗馴化 92 天後，移植至香蕉研究所進行田區試驗，同時在移植當天接種 *Pseudomonas putida* (1×10^8 cfu per plant) 與 *Trichoderma asperellum* (1×10^6 spores per plant)。香蕉移植至田區 158 天後做生育調查與病害調查，試驗結果顯示：接種菌根菌之處理其香蕉生長勢最好，株高比對照組高 12.6% (高 16 cm)，而葉數比對照組多 36.9% (多 2.4 葉)，且接種菌根菌處理之香蕉其黃葉病發病率 (67%) 明顯 ($P < 0.05$) 比對照組 (88%) 低。接種菌根菌後再接種市售微生物菌劑之香蕉其黃葉病發病率及病害程度與對照組無顯著 ($P > 0.05$) 差異。由以上結果可知，單獨接種叢枝菌根菌可降低香蕉黃葉病之病害程度與發病率，但降低病害的幅度還不能符合實際的需要，尚須搭配其他因子。

關鍵詞：叢枝菌根菌、*Glomus clarum*、香蕉、*Musa acuminata*、黃葉病、*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*。

前　言

香蕉是本省重要經濟果樹，外銷到日本市場約有百年之歷史。根據行政院農業委員會編印之中華民國 90 年到 99 年農業統計年報資料顯示，全台灣香蕉栽培面積 10,184–14,072 ha，總產量為 148,715–287,895 t，每公頃之產量為 15,104–23,663 kg，產區主要集中於中南部之屏東縣、南投縣與高雄縣等地。台灣中南部

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2693 號。接受日期：101 年 7 月 26 日。
2. 本所農業化學組助理研究員、研究助理。台灣　台中市。
3. 台灣香蕉研究所助理研究員。台灣　屏東縣。
4. 通訊作者，電子郵件：linmay@tari.gov.tw；傳真機：(04)23302805。

香蕉生產主要以種植 ‘北蕉’ [*Musa acuminata* Colla (Cavendish Group) cv. ‘Pei Chiao’] 品種為主，其果形、風味俱佳，深受內外銷市場歡迎。但 ‘北蕉’ 對黃葉病不具抗病性，香蕉黃葉病於 1967 年首次出現在屏東縣佳冬地區，由於當時未能立即採取隔離及撲滅措施，1980 年期間已由南台灣擴及台蕉所有主產區。在 2002 年間中南部約七千多公頃蕉園，受黃葉病波及者達四千多公頃 (Hwang 2002)，台灣香蕉產業受到嚴重威脅。

香蕉黃葉病又稱巴拿馬病或鐮胞菌萎凋病，其病原菌為尖鐮胞菌香蕉分化型 *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder & Hansen。台灣香蕉研究所於 1970 年成立，對於香蕉黃葉病之防治以選育抗病品種為主要工作，歷年來選育的耐抗病品種有 ‘台蕉一號’、‘台蕉三號’ 及 ‘寶島蕉’，分別於 1992 年、2000 年與 2001 年命名推廣。‘台蕉一號’ 與 ‘台蕉三號’ 為黃葉病耐病栽培種，適合在土層深厚、排水良好及富含有機質之蕉園種植，在黃葉病重病區域或排水不良之病園仍會發病，不宜種植。‘寶島蕉’ 兼具抗黃葉病與豐產之優良特性，雖然香蕉研究所致力於 ‘寶島蕉’ 之推廣，但在外銷日本推展上並不順利。香蕉研究所於 2007 年再推出 ‘台蕉5號’，此品種主要特徵是株型及果實風味保留了傳統 ‘北蕉’ 的特質，同時又具有對香蕉黃葉病的抗病能力，屬中抗病性品種，目前正推廣中 (台灣香蕉研究所網頁 http://www.banana.org.tw/；首頁》關於本所》組織及部門職掌》品種改良)。

許多研究指出土壤的理化性質與微生物特性對植物的鐮胞菌病害具有影響力。Alabouvette (1986) 研究指出抑病土壤可降低植物土生性病害之嚴重程度，即使是在土壤中含有很高的病原菌接種密度，他認為土壤的抑病能力是由於微生物間的養分競爭。Amir & Alabouvette (1993) 研究黏土類型對萎凋病的影響，發現易導病的砂質土壤添加蒙特石可增加萎凋病的抗病程度，而添加滑石則會增加萎凋病的罹病程度。Domínguez *et al.* (2001) 調查發現導病土中的土壤團粒之水穩定度 (Aggregate water-stability) 與可利用性鐵濃度較高，而抑病土土壤溶液中的 EC 值與可溶性鈉濃度較高。Stotzky & Martin (1963) 調查中美洲國家長期生產香蕉的 67 個土壤發現具有膨脹性黏土 (蒙特石) 的土壤其香蕉黃葉病發生率較低。Höper *et al.* (1995) 研究黏土類型與土壤 pH 值對鐮胞菌抑病能力之影響指出，黏土類型 (高嶺石、伊來石與蒙特石)、$CaCO_3$ 添加量與 $CaCO_3$ 施入土壤的時間皆會影響土壤的抑病能力。Chuang (1991) 測試不同類型的鈣化合物 [$CaCl_2$, $Ca(OH)_2$, $CaCO_3$, $CaSO_4$, $Ca_3(PO_4)_2$, $Ca(NO_3)_2$] 對香蕉鐮胞菌厚壁孢子發芽之影響，試驗結果顯示 $CaCO_3$ 對香蕉鐮胞菌厚壁孢子發芽的抑制效果最好。Peng *et al.* (1999) 研究指出在 300 g 的導病土壤中施用 3 g 的碳酸鈣可使香蕉黃葉病罹病程度從 93% 下降至 33%。Sanjeevk & Eswaran (2008) 研究指出在馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar, PDA) 培養基中加入 500 ppm 或 750 ppm 的硼砂可完全抑制鐮胞病原菌菌絲在 PDA 培養基上生長。Thangavelu *et al.* (2003) 研究指出接種螢光假單胞菌可增加香蕉葉組織內的酚類化合物與抗病酵素的含量。Mohandas *et al.* (2004) 研究指出接種螢光假單胞菌可降低鐮胞病原菌的感染率 72%，螢光假單胞菌可改變香蕉根部皮層細胞的構造，在鐮胞病原菌入侵的位置大量堆積防禦性的構造，防止病原菌在根細胞內擴展。Getha *et al.* (2005) 在溫室的盆栽試驗結果指出鏈黴菌可產生胞外抗真菌代謝物對鐮胞病原菌生理小種 1、2、4 皆有很強的拮抗作用，接種鏈黴菌可降低香蕉葉部病徵指數 (index for leaf symptom, LSI) 47% 及地下莖變色指數 53%。Nel *et al.* (2006) 在玻璃溫室中的研究結果指出

非病原性的鐮胞病原真菌可降低香蕉黃葉病發生率 8.4–87.4%，螢光假單胞菌可降低香蕉黃葉病發生率 83.4–87.4%，枯草桿菌可降低香蕉黃葉病發生率 62.4%，木黴菌可降低香蕉黃葉病發生率 33.4%–62.4%，叢枝菌根菌可降低香蕉黃葉病發生率 70.8%。

上述香蕉黃葉病防治之研究有添加碳酸鈣、硼砂或接種微生物菌劑，皆有很好的效果，但他們的試驗都是在溫室或實驗室中進行，至於田間防治應用之研究則鮮少有文章報導。本試驗選擇台灣香蕉研究所病園田區進行，希能藉由微生物接種降低香蕉黃葉病之發病率與病害程度。

材料與方法

試驗田區與試驗設計

本試驗在台灣香蕉研究所病園田區進行，試驗田區為 13 m × 23 m (面積為 299 m^2)。試驗田區採逢機完全區集設計 (randomized complete block design, RCBD)，試驗處理有 3 種：(1) 對照組 (CK)，不接菌；(2) 香蕉苗接種菌根菌 (AM)；(3) 香蕉苗接種菌根菌與市面販售之假單胞菌及木黴菌 (AM + BIO)。每處理 6 重複 (6 個畦)，每重複各種植 10 株，共計 180 株。在作畦前施用基肥，全試區基肥為 400 kg 蔗渣堆肥 (13.4 t/ha)、24 kg 蟹殼粉 (0.8 t/ha)，24 kg 篦麻粕，6 kg 海草粉，3 kg 黃豆粉，3 kg 二號砂糖。基肥施完後打田，作畦。香蕉苗種植一個月後施用第一次追肥，氮肥 (尿素) 與鉀肥 (硫酸鉀) 施用量、施肥時期與分配率依照 ‘作物施肥手冊’ (Lo 2005) 進行。

土壤採樣

試驗前於試區內均衡分散採集 5–15 cm 表土土壤，試區內共採集 12 點。香蕉移植田間 158 天後，於根附近採集 5–15 cm 表土土壤，每畦內有 3 處理，每處理各採集 1 點，6 個畦 (6 重複) 共採集 18 點。試驗前與香蕉移植田間 158 天後所採集之土壤進行理化性質分析與微生物分離培養與鑑定。

土壤理化性質分析

採集土壤先風乾過篩後進行土壤理化性質分析，包括土壤 pH 值、EC 值、質地、有機質、有效性氮、磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅等。土壤 pH 值與 EC 值的測定方法為水土比 1：1 (g/g)，以酸鹼測定儀及電導度測定儀檢測之。土壤質地以粒徑分析儀分析。有機質以總有機碳分析儀測定後換算為有機質含量。有效性氮先用 2 M KCl 抽出後以自動分析儀測定。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅、硼以 Mehlich-3 method (Mehlich 1984) 抽出後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry, ICP) 測定。酸鹼測定儀的廠牌與型號為 Suntex SP-701；電導度測定儀的廠牌與型號為 Denver Instrument Model 20；粒徑分析儀的廠牌與型號為 Beckman Coulter LS 13 320；總有機碳分析儀的廠牌與型號為 Elementar vario MAX C；自動分析儀的廠牌與型號為 Astoria Analyzer Series 300；感應耦合電漿分析儀的廠牌與型號為 HORIBA Jobin Yvon ULTIMA 2C。

土壤微生物之分離培養與鑑定

採集土壤先經混勻後秤取 10 g 濕土，加入無菌水中進行連續稀釋，稀釋液以瓊脂平板 (Agar Plate) 分離培養微生物 (Wollum II 1982)。以營養瓊脂 (Nutrient Agar, NA) 培養基分離培養土壤之細菌，以馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (Potato Dextrose Agar, PDA) 培養基分離培養土壤之真菌，以澱粉酪蛋白瓊脂 (Starch Casein Agar, SCA) 培養基分離培養土壤之放線菌。營養瓊脂培養基的成份為 1000 mL 的純水中含 3 g Beef extract、5 g Peptone、15 g Agar；馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基的成份為 1000 mL 的純水中含 200 g Potato、20 g Dextrose、15 g Agar；澱粉酪蛋白瓊脂培養基的成份為 1000 mL 的純水

中含 10 g Starch、0.3 g Casein、2 g KNO_3、2 g NaCl、2 g K_2HPO_4、0.05 g $MgSO_4$・$7H_2O$、0.02 g $CaCO_3$、0.01 g $FeSO_4$・$7H_2O$、15 g Agar。細菌與真菌在室溫下培養 7 天後計數菌數，放線菌在室溫下培養 14 天後計數菌數。以 Komada's medium (Komada 1975) 分離培養並計數鐮胞病原菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 之菌數。以濕篩法與糖度離心法 (Daniels & Skipper 1982) 分離土壤中之叢枝菌根菌孢子，在實體顯微鏡下計數菌根菌數量；叢枝菌根菌孢子以 PVLG (polyvinyl alcohol lactic glycerol) (Koske & Tessier 1983) 與 Melzer's 碘液 (Hawksworth *et al.* 1995) 作成半永久片，在光學顯微鏡下根據孢子的孢壁構造及其他形態特徵鑑定菌根菌種類 (Schenck & Perez 1990)。

香蕉苗馴化與栽培

香蕉品種為北蕉，由香蕉研究所提供組織培養苗，在農業試驗所玻璃溫室進行馴化，馴化時所使用之栽培介質為 4 號南海蛭石，栽培盆為 35 格穴盤。馴化 34 天後進行第一次移植，栽培介質為泥炭土加珍珠石之混合物，混合比例為體積比 3：1，栽培盆為 35 格穴盤。移植 41 天後再進行第二次移植，移至 5 吋圓形塑膠盆。栽培介質為泥炭土加珍珠石之混合物，混合比例為體積比 3：1。第二次移植 17 天後再移植至香蕉研究所試驗田中。

叢枝菌根菌與市售微生物菌劑接種

香蕉在第一次移植至 35 格穴盤時接種農業試驗所自行培養之叢枝菌根菌 *Glomus clarum*，每株香蕉苗接種 200 個孢子，接種方式為菌土與栽培介質充分混勻。市售微生物菌劑為福壽牌活麗送 FS-BIO-1，所含菌株為假單胞菌 (*Pseudomonas putida*) 與木黴菌 (*Trichoderma asperellum*)，假單胞菌的菌種濃度為 1×10^8 cfu/g，木黴菌的厚膜孢子數為 1×10^6 spores/g，施用方法為香蕉苗移植田間後馬上澆灌，每株灌注 500 mL 稀釋 1000 倍之稀釋液，隔週再灌 1 次，共澆 2 次。

生育調查與病害調查

香蕉苗移植至試驗田前先調查其株高、葉數與總鮮重。香蕉根洗淨後以苯胺藍 (Aniline Blue) 染色 (Koske & Gemma 1989)，以格子線交叉法計算菌根菌感染率 (Giovannetti & Mosse 1980)。香蕉移植至試驗田 158 天後調查其株高、葉數、香蕉黃葉病發病率與病害程度。香蕉黃葉病發病率之判定標準如下：香蕉葉片黃化且假莖維管束褐化判定為發病，發病率 (%) = 發病株數 ÷ 總株數 × 100。香蕉黃葉病病害程度之判定分為外部病徵與內部病徵，外部病徵包括葉片黃化，假莖縱裂及假莖維管束褐化，葉片黃化等級為葉片無黃化以 '0' 表示，葉片黃化以 '1' 表示；假莖縱裂等級為假莖無縱裂以 '0' 表示，假莖縱裂以 '1' 表示；假莖維管束褐化程度分 4 級，以 '0' 表示無褐化、'1' 表輕微褐化、'2' 表中度褐化、'3' 表嚴重褐化；香蕉黃葉病內部病徵則為塊莖維管束褐化，褐化程度分 4 級，以 '0' 表示無褐化、'1' 表輕微褐化、'2' 表中度褐化、'3' 表嚴重褐化。以上香蕉黃葉病發病率與病害程度為台灣香蕉研究所現行之判定標準。

資料統計與分析

上述所有資料利用 SAS 套裝統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，若處理效應顯著 ($P < 0.05$)，則再利用最小顯著性差異 (least significant difference, LSD) 測驗以比較各處理平均值間之差異性。其中，微生物菌落數及香蕉黃葉病發病率在進行 ANOVA 之前先予開方根轉換 (square-root transformation)。

結果與討論

試驗土壤理化性質分析

試驗前土壤理化性質如表 1 所示，試驗田土壤 pH 平均為 6.1 (5.8–6.7)，質地為砂質

壤土 (SL)，土壤磷含量較高，平均 490 mg/kg (178–694 mg/kg)，硼含量偏低，平均 0.3 mg/kg (0.1–0.9 mg/kg)，其他營養元素含量適中。由於土壤中磷含量已偏高，故追肥中不施磷肥。香蕉移植田間一個月後，三種處理之部分香蕉幼葉出現缺硼現象，故每株香蕉以 500 mL 硼酸液肥澆灌，硼酸液肥濃度為硼酸 0.5 mg/L (即為 2000 倍稀釋液)，隔週再灌一次，連續灌兩次，在第三週，每株香蕉另以 1.67 g 硼砂撒施後澆水，經過肥料補充後，香蕉缺硼現象慢慢消失。

香蕉移植田間 158 天後採集土壤進行理化性質分析，分析結果如表 1 所示，三種處理各項理化性質差異均未達 5% 顯著水準，但香蕉接種叢枝菌根菌處理組 (AM) 之土壤 pH 值、有效性鈣含量與有效性鎂含量為三種處理中最高者 (分別比對照組高 0.2 unit、16%、43%)，而有效性磷與有效性鐵含量皆為三種處理中最低者 (分別比對照組低 11% 與 11%)。

土壤微生物數量

試驗土壤在處理前測定其細菌、真菌、放線菌與香蕉黃葉病鐮胞病原菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*) 之菌落數，結果如表 2 所示，細菌之總菌落數為 1.4×10^5 cfu/g of $soil_{DW}$ ($_{DW}$, dry weight)，真菌之總菌落數為 2.4×10^5 cfu/g of soil $_{DW}$，放線菌之總菌落數為 2.5×10^5 cfu/g of $soil_{DW}$，病原菌 *F. oxysporum* f. sp. *cubense*之菌落數為 6.7×10^2 cfu/g of $soil_{DW}$。採樣土壤亦調查叢枝菌根菌之孢子數，其孢子數為 35 ± 20 spores/100 g of $soil_{DW}$，主要菌種為 *Gigaspora albida* 與 *Glomus mosseae*。

香蕉移植田間 158 天後採集土壤測定土壤微生物之菌落數，結果如表 2 所示，三種處理之細菌、真菌、放線菌與鐮胞病原菌之總菌落數差異均未達 5% 顯著水準。各處理之細菌總菌落數為 9.7×10^5–1.3×10^6 cfu/g of $soil_{DW}$，真菌總菌落數為 1.3×10^5–1.7×10^5 cfu/g of $soil_{DW}$，放線菌總菌落數為 2.6×10^5–3.3×10^5 cfu/g of $soil_{DW}$，病原菌 *F. oxysporum* f. sp. *cubense* 菌落數為 2.8×10^2–3.8×10^2 cfu/g of $soil_{DW}$。採樣土壤中叢枝菌根菌之孢子數為 15 ± 13 spores/100 g of $soil_{DW}$，主要菌種為 *Gigaspora albida*。

叢枝菌根菌與市售微生物菌劑對香蕉生長與黃葉病病害之影響研究

香蕉苗移植田間前與移植田間 158 天後之生育調查如表 3 所示，移植至田間前三種處理中對照組之香蕉苗生長勢比其他兩處理好，株高顯著較高。香蕉移植田間前調查菌根菌感染率，接種菌根菌之香蕉其菌根菌感染率為 20 ± 6% ，對照組為 0。移植田間 158 天後接種菌根菌之處理其香蕉生長勢最好，株高比對照組高 12.6% (高 16 cm)，而葉數比對照組多 36.9% (多 2.4 葉)。移植田間 158 天後調查香蕉黃葉病病害程度與發病率如表 4 所示，接種菌根菌處理 (AM) 之香蕉其葉片黃化程度、假莖縱裂程度、假莖維管束褐化、塊莖維管束褐化程度與發病率皆顯著小於對照組 (分別小於 25%、25%、30%、28%、21%)。香蕉接種菌根菌後再接種市售微生物菌劑 (*P. putida* 與 *T. asperellum*) 之處理，其黃葉病病害程度及發病率與對照組差異並不顯著。

根據 Whipps (2004) 的報導指出，菌根菌可降低萎凋病 (由 *Rhizoctonia*、*Fusarium* 或 *Verticillium* 所引起) 與根腐病 (由 *Phytophthora*、*Pythium* 或 *Aphanomyces* 所引起) 之發病率或降低病害的嚴重性。Whipps (2004) 將叢枝菌根菌在生物防治上的作用機制模式區分成四組：(1) 直接相互競爭或抑制；(2) 促進或改變植物的生長、營養狀態及外部形態；(3) 與植物防衛機制有關的生化改變並且誘導產生抗性；(4) 拮抗微生物相的建立。在本試驗中可得到證實的是第二組作用機制：菌根菌可促進或改變香蕉的生長、營養狀態及外部形態。

本試驗中，香蕉接種叢枝菌根菌處理組

表 1. 台灣香蕉研究所試驗前與香蕉移植 158 天後之土壤理化性質分析

Table 1. Physical and chemical properties of soils of the field used in this study prior to the experiment and at 158 days after transplanting of banana in the field

Treatment	pH (1：1)	Conductivity (μS/cm)	Soil texture	N (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)
Before experiment [z]	6.1 ± 0.2 [z]	348 ± 103	SL [x]	90 ± 36	490 ± 146	257 ± 128	2545 ± 1296	255 ± 240	407 ± 136	58 ± 37	3.2 ± 1.4	16 ± 11	0.3 ± 0.3
CK [y]	5.8 ± 0.4 a [y]	868 ± 147 a	SL	150 ± 34 a	509 ± 107 a	297 ± 111 a	2942 ± 1063 a	207 ± 135 a	425 ± 109 a	55 ± 27 a	3.0 ± 0.9 a	15 ± 8 a	0.8 ± 0.3 a
AM [y]	6.0 ± 0.3 a [y]	829 ± 230 a	SL	145 ± 28 a	453 ± 118 a	288 ± 70 a	3415 ± 877 a	295 ± 159 a	377 ± 120 a	66 ± 28 a	2.8 ± 0.9 a	10 ± 3 a	1.0 ± 0.1 a
AM + BIO [y]	5.6 ± 0.3 a [y]	881 ± 251 a	SL	144 ± 29 a	493 ± 114 a	273 ± 42 a	2475 ± 2141 a	215 ± 260 a	469 ± 152 a	46 ± 45 a	2.7 ± 0.4 a	9 ± 4 a	0.5 ± 0.8 a

[z] Data collected before banana transplanting; Mean ± standard error ($n = 12$) before experiment.

[y] CK: control; AM: Banana seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus clarum*; AM + BIO: Banana seedlings inoculated with *Glomus clarum*, *Pseudomonas putida* and *Trichoderma asperellum*. Data collected at 158 days after transplanting of banana; Mean ± standard error ($n = 6$). Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

[x] SL: Sandy loam soil.

表 2. 台灣香蕉研究所試驗前與香蕉移植 158 天後之土壤微生物菌落數

Table 2. Populaton of soil microorganisms of the field used in this study prior to the experiment and at 158 days after transplanting of banana

Treatment	Bacteria (cfu/g soil)	Fungi (cfu/g soil)	Actinomycetes (cfu/g soil)	*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (cfu/g soil)
Before experiment [z]	$1.4 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ [z]	$2.4 \times 10^5 \pm 0.5 \times 10^5$	$2.5 \times 10^5 \pm 0.4 \times 10^5$	$6.7 \times 10^2 \pm 1.6 \times 10^2$
CK [y]	$12.2 \times 10^5 \pm 4.2 \times 10^5$ a [x]	$1.7 \times 10^5 \pm 0.8 \times 10^5$ a	$2.6 \times 10^5 \pm 1.2 \times 10^5$ a	$3.8 \times 10^2 \pm 2.0 \times 10^2$ a
AM [y]	$9.7 \times 10^5 \pm 3.2 \times 10^5$ a [x]	$1.4 \times 10^5 \pm 1.0 \times 10^5$ a	$3.3 \times 10^5 \pm 2.6 \times 10^5$ a	$3.7 \times 10^2 \pm 2.0 \times 10^2$ a
AM + BIO [y]	$12.5 \times 10^5 \pm 2.3 \times 10^5$ a [x]	$1.3 \times 10^5 \pm 0.7 \times 10^5$ a	$2.7 \times 10^5 \pm 2.1 \times 10^5$ a	$2.8 \times 10^2 \pm 0.8 \times 10^2$ a

[z] Data collected before banana transplanting; Mean ± standard error ($n = 12$) before experiment.

[y] CK: control; AM: Banana seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus clarum*; AM + BIO: Banana seedlings inoculated with *Glomus clarum*, *Pseudomonas putida* and *Trichoderma asperellum*.

[x] Data collected at 158 days after transplanting of banana. Mean ± standard error ($n = 6$) at 158 days after transplanting of banana. Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test. Data were square-root transformed prior to analysis.

表 3. 香蕉移植前與移植 158 天後之生育調查

Table 3. Growth of banana plants at transplanting and at 158 days after growing in the field

Treatment [z]	At the time of transplanting			At 158 days after transplanting to the field	
	Plant height (cm)	No. leaves/plant	Fresh weight (g)	Plant height (cm)	No. leaves/plant
CK	19.8 ± 2.3 a [y]	8.1 ± 0.8 a	66.2 ± 8.6 a	127 ± 17 ab	6.5 ± 1.4 b
AM	17.6 ± 1.6 b	7.6 ± 0.9 a	60.3 ± 13.7 a	143 ± 18 a	8.9 ± 1.0 a
AM + BIO	17.6 ± 1.6 b	7.6 ± 0.9 a	60.3 ± 13.7 a	121 ± 10 b	7.2 ± 1.3 b

[z] CK: control; AM: Banana seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus clarum*; AM + BIO: Banana seedlings inoculated with *Glomus clarum*, *Pseudomonas putida* and *Trichoderma asperellum*.

[y] Mean ± standard error ($n = 6$). Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 4. 香蕉移植 158 天後黃葉病之發病率與病害程度

Table 4. Incidence and severity (leaf yellowing, pseudostem splits, vessel browning of pseudostem and vessel browning of corm) of *Fusarium* wilt of banana transplanted in the field for 158 days

Treatment [z]	Disease incidence (%)	Leaf yellowing	Pseudostem splits	Vessel browning of pseudostem	Vessel browning of corm
CK	88 ± 15 a [y]	0.91 ± 0.14 a	0.83 ± 0.20 a	2.06 ± 0.27 a	2.54 ± 0.36 a
AM	67 ± 15 b	0.68 ± 0.39 b	0.62 ± 0.32 a	1.45 ± 0.91 b	1.83 ± 1.11 b
AM + BIO	90 ± 12 a	0.89 ± 0.33 a	0.79 ± 0.28 a	2.04 ± 0.77 a	2.49 ± 0.93 a

[z] CK: control; AM: Banana seedlings inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus clarum*; AM + BIO: Banana seedlings inoculated with *Glomus clarum*, *Pseudomonas putida* and *Trichoderma asperellum*.

[y] Mean ± standard error (n = 6). Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test. Percentage data were square-root transformed prior to analysis.

(AM) 之發病率與病害程度皆比對照組低，這可能亦與土壤理化性質有關。接種菌根菌之處理，其土壤 pH 值、有效性鈣含量與有效性鎂含量為三種處理中最高者，而有效性磷與有效性鐵含量皆為三種處理中最低者，這可能是菌根菌可幫助香蕉吸收土壤中之磷與鐵，使被磷固定之鈣與鎂釋放至土壤中，促使土壤 pH 值提高。根據 Domínguez *et al.* (2001) 調查發現香蕉抑病土之土壤 pH 值較高，而其可利用性鐵濃度較低。Chuang (1988) 分析土壤樣品之 pH 值、鈣、鎂、鉀、磷與有機質含量，發現土壤 pH 值與鈣含量皆與香蕉黃葉病菌厚膜孢子發芽率成負相關。在本試驗中土壤理化性質的改變應是促使香蕉黃葉病發病率與病害程度降低之重要因子。

接種菌根菌後再接種市售微生物菌劑處理組，並未如預期的使香蕉黃葉病之病害程度與發病率降低，反而抵消了菌根菌的接種效果。Mohandas *et al.* (2004) 研究指出接種螢光假單胞菌可降低鐮胞病原菌的感染率 72%，Nel *et al.* (2006) 研究指出木黴菌可降低香蕉黃葉病發生率，本試驗所使用之市售微生物菌劑 *P. putida* 與 *T. asperellum* 在 PDA 培養基上與鐮胞病原菌作對峙試驗時，亦可抑制鐮胞病原菌之生長，但田間試驗無法表現出抑制的效果。

由以上結果可知，接種菌根菌雖可降低香蕉黃葉病之病害程度與發病率，但降低病害的幅度還不能符合實際的需要，還要搭配其他因子，如拮抗微生物、忌避作物等，未來將朝拮抗微生物之篩選與綜合農耕法來努力。

引用文獻 (Literature cited)

Alabouvette, C. 1986. *Fusarium*-wilt suppressive soils from the Châteaurenard region: review of a 10-year study. Agronomie 6:273–284.

Amir, H. and C. Alabouvette. 1993. Involvement of soil abiotic factors in the mechanism of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts. Soil Biol. Biochem. 25:157–164.

Chuang, T. Y. 1988. Studies on the soils suppressive to banana *Fusarium* wilt II. Nature of suppression to race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in Taiwan soils. Plant Prot. Bull. 30:125–134. (in Chinese with English abstract)

Chuang, T. Y. 1991. Suppressive soil of banana *Fusarium* wilt in Taiwan. Plant Prot. Bull. 33:133–141. (in Chinese with English abstract)

Daniels, B. A. and H. D. Skipper. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. p.20–45. *in*: Methods and Principle of Mycorrhizal Research. (Schenck, N. C., ed.) The Amer. Phytopathol. Soc. St. Paul. 244 pp.

Domínguez, J., M. A. Negrín, and C. M. Rodríguez. 2001. Aggregate water-stability, particle-size and soil solution properties in conducive and suppressive soils to *Fusarium* wilt of banana from Canary Islands (Spain). Soil Biol. Biochem. 33:449–455.

Getha, K., S. Vikineswary, W. H. Wong, T. Seki, A. Ward, and M. Goodfellow. 2005. Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of

Fusarium wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. J. Indust. Microbiol. Biotechnol. 32:24–32.

Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84:489–500.

Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, B. C. Satton, and D. N. Pegler. 1995. Dictionary of the Fungi. 8th ed. University Press. Cambridge. 437 pp.

Höper, H., C. Steinberg, and C. Alabouvette. 1995. Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of flax. Soil Biol. Biochem. 27:955–967.

Hwang, S. C. 2002. Application of tissue culture technology for controlling *Fusarium* wilt of banana. Plant Pathol. Bull. 11:57–61.

Komada H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Rev. Plant Prot. Res. 8:114–125.

Koske, R. E. and B. Tessier. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. Newsletter Mycol. Soc. Amer. 34:59.

Koske, R. E. and J. N. Gemma. 1989. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycol. Res. 92:486–488.

Lo, C. H. 2005. Guidelines of Fertilizer Application in Taiwan. Council of Agriculture, Executive Yuan Pub. Taipei. 154 pp. (in Chinese)

Mehlich, A. 1984. Mehlich-3 soil test extractant: a modification of Mehlich-2 extractant. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 15:1409–1416.

Mohandas, S., M. Manamohan, R. D. Rawal, S. Chakraborty, H. Sreekantappa, R. Manjula, and H. C. Lakshmikantha. 2004. Interaction of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* with *Pseudomonas fluorescens* precolonized to banana roots. World J. Microbiol. Biotechnol. 20:651–655.

Nel, B., C. Steinberg, N. Labuschagne, and A. Viljoen. 2006. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing *Fusarium* wilt of banana. Plant Pathol. 55:217–223.

Peng, H. X., K. Sivasithamparam, and D. W. Turner. 1999. Chlamydospore germination and *Fusarium* wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. Soil Biol. Biochem. 31:1363–1374.

Sanjeevk, K. and A. Eswaran. 2008. Efficacy of micro nutrients on banana *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) and it's synergistic action with *Trichoderma viride*. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 36:52–54.

Schenck, N. C. and Y. Perez. 1990. Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. Synergistic Publication. Gainesville. 286 pp.

Stotzky, G. and R. T. Martin. 1963. Soil mineralogy in relation to the spread of *Fusarium* wilt of banana in Central America. Plant Soil. 18:317–337.

Thangavelu, R., A. Palaniswami, S. Doraiswamy, and R. Velazhahan. 2003. The effect of *Pseudomonas fluorescens* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* on induction of defense enzymes and phenolics in banana. Biol. Plant. 46:107–112.

Whipps, J. M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. Can. J. Bot. 82:1198–1227.

Wollum II, A. G. 1982. Culture methods for soil microorganisms. p.781–802. *in*: Methods of Soil Analysis, Part 2- Chemical and Microbiological Properties. (Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeney, eds.) Amer. Soc. Agro. Madison. 1159 pp.

Using Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Other Microorganisms for Control of *Fusarium* Wilt of Banana[1]

Su-Chen Lin[2,4], Chao-Yi Wang[2], and Ching-Chung Su[3]

Abstract

Lin, S. C., C. Y. Wang, and C. C. Su. 2012. Using arbuscular mycorrhizal fungus and other microorganisms for control of *Fusarium* wilt of banana. J. Taiwan Agric. Res. 61:241–249.

Fusarium wilt of banana (*Musa acuminata*) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* is one of the important factors limiting the development of banana industry in Taiwan. The objective of this study was to conduct a field experiment on control of *Fusarium* wilt of banana by microbial agents. Three microbial agents were used in this study including one mycorrhizal fungus *Glomus clarum*, which was developed at Taiwan Agricultural Research Institute (TARI) and two other agents, *Pseudomonas putida* and *Trichoderma asperellum*, which were mixed in a commercial product. Banana tissue culture from Taiwan Banana Research Institute (TBRI), was acclimated in TARI in September 2009. The tissue cultured plantlets, after 34 days acclimation, were inoculated with *G. clarum* 200 spores per plant, and the seedlings were thereafter 92 days acclimation, transplanted to the trial field of TBRI, located in Pingtong County. On the same day with transplanting, the seedlings were inoculated each with *Pseudomonas putida* (1×10^8 cfu per plant) and *Trichoderma asperellum* (1×10^6 spores per plant). At 158 days after transplanting banana to the field, plants infected by *F. oxysporum* f. sp. *cubense* were recorded and data on disease incidence and severity were collected and analyzed. Results showed that, compared to untreated control, banana plants treated with *G. clarum* resulted in 12.6% increase (or 16 cm increase) in plant height and 36.9% increase (or increase of 2.4 leaves) in number of leaves. Also, treatment of *G. clarum* resulted in a significant ($P < 0.05$) reduction in incidence of *Fusarium* wilt of banana (67%), compared to in untreated control (88%). However, banana plants pretreated with *G. clarum*, and then post-inoculated with the commercial product (*Pseudomonas* and *Trichoderma*) did not cause a significant difference ($P > 0.05$) in the incidence and severity of *Fusarium* wilt for banana, compared to the untreated control. This study indicates that the arbuscular mycorrhizal fungus *G. clarum* is an effective agent for reducing incidence and severity of *Fusarium* wilt of banana, but further studies on other control measures are needed for achieving effective protection of this devastating disease of banana under field conditions.

Key words: Arbuscular mycorrhizae, *Glomus clarum*, Banana, *Musa acuminata*, *Fusarium* wilt, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

---

1. Contribution No. 2693 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: July 26, 2012.
2. Respectively, Assistant Researcher and Research Assistant, Agricultural Chemistry Division, TARI, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Assistant Researcher, Taiwan Banana Research Institute, Pintong, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: linmay@tari.gov.tw; Fax: (04)23302805.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 61(3):250–257 (2012)

生物可分解材料作為蝴蝶蘭栽培介質之可行性評估[1]

戴廷恩[2,4] 張耿衡[2] 謝廷芳[3]

摘　要

戴廷恩、張耿衡、謝廷芳。2012。生物可分解材料作為蝴蝶蘭栽培介質之可行性評估。台灣農業研究 61:250–257。

水苔 (sphagnum moss) 為台灣蝴蝶蘭主要栽培介質，近年來因過度開採導致產量減少，成本提高，品質穩定度不一，影響高品質蝴蝶蘭的生產。聚乳酸 (polylactic acid) 為一種生物可分解聚合物，近年來已廣泛地被應用。本研究評估聚乳酸作為替代水苔為蝴蝶蘭栽培介質之可行性，同時比較水苔及以樹皮椰纖和泥炭土等傳統成分組成的混合介質，進行蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis* Sogo Yukidian) 栽培試驗，分析介質之酸鹼度、導電度與對植株生長之影響。研究結果顯示，泥炭土混合介質對蝴蝶蘭植株生長與開花性狀之表現與天然水苔處理者無顯著差異 ($P >$ 0.05)。以中性的聚乳酸介質栽培蝴蝶蘭，植株葉片之生長表現與天然水苔間有顯著性差異；於自然花期均能順利抽梗開花，平均抽梗數約為 1 梗，處理間無顯著差異，但開花性狀表現則不如水苔處理組，後者花梗長度 117.2 cm，長粒柱狀聚乳酸及片狀聚乳酸等處理組，分別只有 89.7 cm 及 91.7 cm，並影響平均著生花朵數，分別為 13.4 及 12.6 朵，較水苔處理組植株減少約 2–4 朵。

關鍵詞：水苔、樹皮、椰纖、泥炭土、聚乳酸。

台灣地處於亞熱帶氣候區，恆春半島及南部為原生種蝴蝶蘭在地球分布區域之最北端 (Chang 2007)。台灣地理環境具有不同地形與氣候特性，符合蝴蝶蘭品系生理特性差異，比起日本及歐美溫帶國家，不僅可以節省更多的加溫費用，還可縮短栽培年限，因而降低生產成本。台灣蝴蝶蘭產業發展多年，由業餘育種朝向專業商業栽培模式發展，在栽培技術的改進以及適合本土氣候環境現代化溫室的建置下，建立週年開花栽培體系，開發外銷市場，使台灣蝴蝶蘭在國際市場上佔有一席之地，種植面積及產量不斷提升，目前以外銷美國與日本為主。台灣是目前全世界蝴蝶蘭種苗與植株的重要外銷國家之一，據估計台灣蝴蝶蘭栽培面積已超過 170 ha，其中超過 100 ha 栽培種苗供應外銷市場之需求，可見蝴蝶蘭對台灣農業

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2680 號。接受日期：101 年 5 月 9 日。
2. 本所花卉研究中心環境系副研究員兼主任、助理研究員。台灣　雲林縣。
3. 本所花卉研究中心研究員兼主任。台灣　雲林縣。
4. 通訊作者，電子郵件：tedai@tari.gov.tw；傳真機：(05)5820834。

之重要性 (Taiwan Orchids Growers Association 2010)。近年來，台灣面臨中國及東南亞國家的低價威脅，高價市場又面臨荷蘭競爭，為了提高國際競爭力及開拓外銷市場，如何改善品質、提高育成效率與降低生產成本成為蝴蝶蘭產業永續發展的重要課題。台灣蝴蝶蘭生產主要以水苔為栽培介質，水苔如線條狀生長於多濕的溫帶林中，柔軟而富彈性，其吸水及乾燥後有如海綿 (Tung 1980)。台灣目前使用之水苔大部分由智利、紐西蘭及中國等地進口，因為栽培面積增加，水苔進口逐年增加，2010 年進口量已達約 2800 t (Directorate General of Customs, Ministry of Finance 2010, http://www.customs.gov.tw/StatisticWeb/News.aspx)。近年來，由於蝴蝶蘭產業發展，水苔介質需求量增加，導致過度開採而使產量減少、成本提高，品質亦不甚穩定，影響蝴蝶蘭的生產及品質 (Chang *et al.* 2006)，因此，有必要開發新的替代介質，以解決水苔品質不穩定的問題。理想的栽培介質應具備通氣性佳、保水力強、性質一致、質地輕、陽離子交換容量高 (保肥力高)、適當的碳氮比、pH 值和導電度值等物化條件；加上無病蟲源、無毒性、穩定、耐衝擊、操作方便、價格便宜、材料取得容易等因素 (Shen 2007)。荷蘭主要以樹皮作為蝴蝶蘭栽培介質，以適應其自動化溫室操作，提升栽培效率及減少昂貴人力成本之投入。東南亞國家地處熱帶區域，椰纖來源充足且成本低，應用於蘭花栽培介質極為普遍。多年來，開發利用水苔以外之材料作為蝴蝶蘭栽培介質之試驗研究不曾間斷 (Lin 1983; Lin & Lee 1988; Tanaka *et al.* 1988; Wang & Gregg 1994; Wu *et al.* 1994; Wang 1995, 1998, 2000; Wang & Konow 2002; Kohara *et al.* 2004; Chang *et al.* 2006; Chang *et al.* 2007)，這些研究結果證明利用非水苔介質栽培蘭花之可行性。地球石油資源有限，塑膠製品造成嚴重環境汙染，可生物分解的聚合物開發，已成為當前研究開發的重點之一。目前經過多年的研究，可生物分解聚合物中，聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 之應用前景頗佳。聚乳酸為一種由乳酸延伸出來的化合物，主要由玉米澱粉發酵產生乳酸，再經化學合成方法而得。除玉米外，小麥稈及蔗渣等農業廢棄物，也可提煉生成聚乳酸。聚乳酸成分無毒、無刺激性，具有生物互容性及生物降解性，不僅易於分解，且於堆肥環境中可完全分解為二氧化碳及水。目前聚乳酸多應用於可分解纖維紡織產品、醫療及食品包裝容器及器具等，製作過程會產生一些片狀或顆粒狀多餘廢料。Chang *et al.* (2006) 已驗證塑化產品應用於蝴蝶蘭栽培介質之可行性，但因人造纖維無法分解，影響產業接受度。因此，本研究之目的在於評估利用可生物分解之聚乳酸作為蝴蝶蘭栽培介質之可行性，除分析酸鹼度及導電度等理化特性外，亦比較水苔、樹皮及椰纖等常用生物可分解材料間，對於蝴蝶蘭種苗生育及開花品質之影響。

試驗植株選購自上品蘭園 (雲林縣斗六市)，具 4 片葉，最上位葉雙葉幅約 14–25 cm 之蝴蝶蘭分生苗 (*Phal.* Sogo Yukidian)。本試驗採用之栽培介質為智利水苔 (sphagnum moss，簡稱 M)、椰纖 (coconut fiber，簡稱 C)、樹皮及椰纖混合介質 (bark + coconut fiber，1：1 by volumn，簡稱 BC)、泥炭土加樹皮及椰纖混合介質 (peat moss + fine bark + coconut fiber，3：1：1 by volumn，簡稱 BVB)、長粒柱狀聚乳酸 (P1) 及片狀聚乳酸 (P2) (圖 1) 等 6 種。進行栽培介質酸鹼度及導電度分析，比較上述各介質之 pH 值、EC 值測定時分別逢機取 3 g 之供試介質，各重複 3 次，依萃取液重量比 1：10 加入 100 mL 去離子水，浸泡 24 小時後，測定 pH 值及 EC 值 (pH 值以 Suntex TS-1 pH-meter、EC 值以 Suntex Sc-12 meter 測定) (Wu *et al.* 1994; Chang *et al.* 2006)。探討介質對蝴蝶

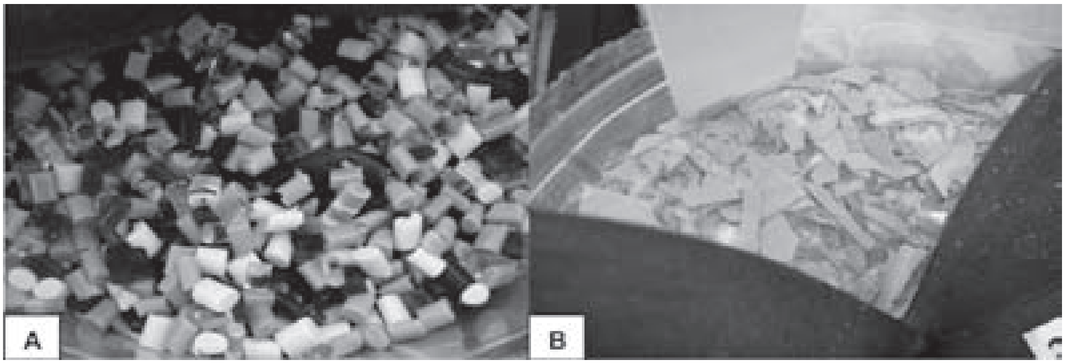


圖 1. 聚乳酸 (PLA) 型態：(A) 顆粒；(B) 碎片。
Fig. 1. Types of polylatic acid (PLA): (A) granules and (B) pieces.

蘭生育之影響，進行蝴蝶蘭生育特性分析，挑選葉數、葉長整齊度均一之蝴蝶蘭，定植於直徑 10.5 cm，容積 560 mL 之透明塑膠軟盆中，6 種介質各 3 重複，每重複 5 株，共 90 株。試驗期間，溫室內氣溫日溫控制於 25–30℃；夜溫控制於 18–25℃。六種試驗組合之養液肥培及澆水時機皆以水苔介質為基準，作相同之處理，當水苔介質表面呈現乾燥狀態 (約 2–3 週 1 次)，即以自來水調配 Peters 20N-20P_2O_5-20K_2O 水溶性肥料 (Scotts company, Marysville, Ohio, USA) 使濃度為 0.4 g/L 之養液，澆灌蘭株至介質呈現飽和含水狀態，並視天候和栽培環境，以不含肥料之自來水加以淋洗，避免介質中塩類離子過度累積。依據目前產業界對於種苗品質之主要評斷標準，每月量測葉片的長度及寬度 (包括頂葉及次葉)、葉片數、雙葉幅及總葉面積等。葉面積量測依 Chang *et al.* (2007) 所建立之公式：葉面積 = k × 最大葉長 × 最大葉寬，k 值為 0.795 (最大葉長 < 10 cm)、0.766 (最大葉長介於 10–20 cm) 及 0.752 (最大葉長介於 20–30 cm) 。開花後，紀錄花梗數目、花梗長度及花梗直徑 (第一朵花著花處)，花芽數、由基部算起第一朵、第三朵及第五朵花之花徑，以評斷開花性狀之表現。統計分析採完全逢機排列 (completely randomized design, CRD)，以 COSTAT 6.2 統計軟體 (CoHort Software, USA) 進行變方分析 (analysis of variance, ANOVA)，若處理效應顯著者再進行最小顯著性差異 (least significant difference, LSD) 測驗比較各處理平均值間之差異性。

介質酸鹼度及導電度分析結果如表 1，栽培介質 pH 值分析結果，6 種試驗介質中以水苔 (M) 之 pH 值最低，平均為 4.79 屬酸性介質，與 BVB、粒狀聚乳酸 (P1) 及片狀聚乳酸 (P2) 之 pH 值呈顯著差異；椰纖 (C) 及樹皮及椰纖混合介質 (BC) 之 pH 值分別為 5.94 及

表 1. 栽培介質酸鹼度及導電度分析
Table 1. The acidities and salities of different growing media

Medium [z]	pH	EC (mS/cm)
M	4.79 ± 1.54 b [y]	0.27 ± 0.15 b
C	5.94 ± 0.10 ab	0.45 ± 0.09 ab
BC	5.74 ± 0.11 ab	0.34 ± 0.07 ab
BVB	6.04 ± 0.14 a	0.50 ± 0.17 a
P1	6.73 ± 0.02 a	0.07 ± 0.00 c
P2	6.22 ± 0.06 a	0.08 ± 0.01 c

[z] M: sphagnum moss imported from Chile; C: coconut fiber; BC: mixing fine bark into coconut fiber (1:1 by volumn); BVB: mixing peat moss and fine bark into coconut fiber (3:1:1 by volumn); P1: granular polylactic acid (PLA); P2: PLA pieces.

[y] Values are mean ± standard error. Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

5.74 屬偏酸性介質，與 BVB、P1 及 P2 之 pH 值 6.04–6.73 屬偏中性介質，但未達 5% 顯著性差異。6 種試驗介質之離子含量 (EC 值) 以BVB、C 及 BC 最高，分別為 0.5、0.45 及 0.34 mS/cm；其次為 M 介質之 EC 為 0.27 mS/cm；以聚乳酸介質之 EC 值顯著較其餘介質為低，P1 及 P2 之 EC 分別僅為 0.07 及 0.08 mS/cm。6 種介質栽培蝴蝶蘭的葉片生長 (表 2) ，以 M 及 BVB 介質之植株有最佳表現，平均葉片數可達 6 片以上，平均最大葉幅分別為 49.3 及 50.5 cm，平均總葉面積可達 900 cm^2 以上，分別為 982 及 940.3 cm^2；P1 介質的植株表現次之，平均葉片數可達 5.5 片，平均總葉面積 712 cm^2、平均最大葉幅 47.6 cm，與 M 及 BVB 介質未達顯著性差異；C、BC 及 P2 介質植株生育最差，植株幾乎停止營養生長，平均葉片數均不到 5 片，平均最大葉幅均低於 40 cm，平均總葉面積均小於 600 cm^2 較 M 及 BVB 介質顯著減少約 1/3。綜合言之，以 C、BC 及 P2 為介質之各項葉片生育均較 M、BVB 及 P1 介質顯著為低。開花品質的調查顯示 (表 3)，6 種介質之植株於自然花期均能順利抽梗開花，平均抽梗數約為 1 梗，處理間並無顯著差異；M 及 BVB 處理組比其他 4 種介質有顯著較佳開花表現，平均花梗長分別為 117.2 及 117.7 cm，平均花梗直徑分別為 7.6 及 7.9 mm、及平均花朵數

表 2. 不同栽培介質對蝴蝶蘭 (*Phal.* Sogo Yukidian) 葉片生長之影響

Table 2. Effect of different growing media on the leaf growth performance of phalaenopsis (*Phal.* Sogo Yukidian) [z]

Medium [y]	Leaf no.	Leaf span (cm)	Total leaf area (cm^2/plant)
M	6.9 ± 0.9 a [x]	49.3 ± 1.5 ab	982.0 ± 56.6 a
C	4.7 ± 0.6 c	38.7 ± 1.3 c	549.3 ± 38.6 c
BC	4.5 ± 0.6 c	37.7 ± 1.2 cd	496.8 ± 59.2 c
BVB	6.2 ± 0.8 a	50.5 ± 2.1 a	940.3 ± 97.7 a
P1	5.5 ± 1.1 b	47.6 ± 2.1 b	712.0 ± 44.2 b
P2	4.1 ± 0.8 c	36.0 ± 1.9 d	426.7 ± 60.3 d

[z] Growing period: Feb. 2008 to April 2009.
[y] M: sphagnum moss imported from Chile; C: coconut fiber; BC: mixing fine bark into coconut fiber (1:1 by volumn); BVB: mixing peat moss and fine bark into coconut fiber (3:1:1 by volumn); P1: granular polylactic acid (PLA); P2: PLA pieces.
[x] Values are mean ± standard error. Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

表 3. 不同栽培介質對蝴蝶蘭 (*Phal.* Sogo Yukidian) 開花品質之之影響

Table 3. Effect of different growing media on flower quality of phalaenopsis (*Phal.* Sogo Yukidian) [z]

	Spike				Width of flower (cm)		
Medium [y]	No.	Length (cm)	Diameter (mm)	Flower bud no.	First	Third	Fifth
M	1.3 ± 0.5 a [x]	117.2 ± 2.9 a	7.6 ± 0.5 a	15.6 ± 0.5 a	13.4 ± 0.2 a	13.0 ± 0.4 a	12.2 ± 0.3 a
C	1.0 ± 0.0 a	100.8 ± 2.9 b	6.6 ± 0.2 b	14.0 ± 0.5 b	12.6 ± 0.2 b	12.3 ± 0.3 b	11.7 ± 0.3 a
BC	1.0 ± 0.0 a	93.2 ± 3.1 c	6.5 ± 0.1 b	13.1 ± 0.4 cd	12.3 ± 0.2 c	11.9 ± 0.2 c	11.4 ± 0.4 a
BVB	1.1 ± 0.4 a	117.7 ± 2.7 a	7.9 ± 0.3 a	16.1 ± 0.4 a	13.3 ± 0.2 a	13.0 ± 0.2 a	12.5 ± 0.2 a
P1	1.0 ± 0.0 a	89.7 ± 8.5 c	6.8 ± 0.6 b	13.4 ± 0.5 bc	12.1 ± 0.2 c	11.7 ± 0.1 c	11.4 ± 0.3 a
P2	1.1 ± 0.4 a	91.7 ± 3.1 c	6.6 ± 0.6 b	12.6 ± 1.3 d	12.2 ± 0.2 c	11.9 ± 0.3 c	11.5 ± 0.4 a

[z] Growing period: Feb. 2008 to April 2009.
[y] M: sphagnum moss imported from Chile; C: coconut fiber; BC: mixing fine bark into coconut fiber (1:1 by volumn); BVB: mixing peat moss and fine bark into coconut fiber (3:1:1 by volumn); P1: granular polylactic acid (PLA); P2: PLA pieces.
[x] Values are mean ± standard error. Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

分別為 15.6 及 16.1 朵；BC、P1 及 P2 等介質植株抽梗表現不佳，抽出花梗平均不足 100 cm，分別為 93.2、89.7 及 91.7 cm，也因此影響著生平均花朵數，分別為 13.1、13.4 及 12.6 朵，較 M 及 BVB 介質植株減少約 2–4 朵。M 及 BVB 介質植株之第 1 及第 3 朵花花徑亦顯著較大，較其他處理組平均增加約 1–2 cm，惟第 5 朵花之花徑則所有處理組間並無顯著差異 (表 3)。

本研究針對 6 種生物可分解性材料進行酸鹼度及電導度之分析與比較，並評估各介質對蝴蝶蘭生育之影響，結果顯示，泥炭土混合介質對蝴蝶蘭植株生長與開花性狀之表現與天然水苔處理者無顯著差異，而聚乳酸作為栽培介質，在相同之栽培條件下，栽培初期之生長表現與天然水苔亦無明顯差異，但開花表現則明顯劣於天然水苔。pH 值為 6–7 時，大部分營養元素皆可成為植物可利用之有效態 (Chang 1987)，數據顯示水苔及樹皮 pH 值均低於 6，屬於酸性介質，因此，使用時必須注意介質 pH 之調整 (Chang *et al.* 2007)。然介質 pH 值變化對蝴蝶蘭之生長影響不大，使用水苔及樹皮等偏酸性介質時，所衍生之問題並不嚴重 (Wang & Gregg 1994; Wang 1998)。聚乳酸、樹皮與椰纖混合及泥炭土混合等介質 pH 值則符合一般認定適合蝴蝶蘭生長之 5.5–6.5 範圍 (Gordon 1990)。另外，PLA 介質以聚乳酸為主要成份，為合成聚合物，不易受微生物分解，一般環境也不會分解，必須在充足的水氣 (相對濕度 90% 以上) 及適當的溫度 (58–70℃) 之環境下才會分解。可避免水苔在經過長期栽培使用即斷裂鬆散，導致喪失原來之保水通氣結構，以及因微生物分解及所含有機及無機化合物，因氧化而造成介質酸化之問題 (Chang 1987)。介質純淨度、養液濃度及澆灌水質等因素，均會對栽培過程介質之 EC 變化造成影響，土壤中栽培作物之研究顯示土壤 EC 值 > 2.0 mS/cm 時，介質所含之鹽類濃度即會影響作物之生長 (Chang 1987)。Wang (1998) 之研究結果顯示以樹皮、水苔及泥炭土之混合介質為蝴蝶蘭栽培介質時，增加澆水鹽度會使根鮮重變輕、花徑縮小及增加落葉，因此，蝴蝶蘭栽培應注意控制 EC。介質保水力是影響蘭科植株生長之重要因素，保水力低之介質，水份容易缺乏，肥份易被淋洗，植株生長常受抑制，因此，介質保水特性會影響蝴蝶蘭之生長表現 (Chang *et al.* 2006)。目前聚乳酸大多應用於替代性塑膠之生產，本試驗所收集應用之聚乳酸材料外觀與一般塑膠顆粒相似 (圖 1)，就材質外觀觀察及吸水性預備試驗 (數據未顯試) 結果得知其保水力極低，理應對蝴蝶蘭之生長產生不利影響，由整體外觀生育表現 (圖 2) 及新根生長情形 (圖 3)，初期種苗生育與慣用介質並無差異，於試驗初期並未能驗證此推測，但試驗最終對總葉面積、葉數、葉幅、葉面積及開花性狀等仍有不利影響。本研究之肥培及澆水時機是以水苔介質為基準，在此栽培管理下，聚乳酸介質之保水狀況，無法滿足蝴蝶蘭之需，養份吸收利用亦相對受影響。試驗前期蘭株幼小時，水份管理仍屬合理範圍，但進入栽培後期，以水苔為標準的澆灌時機已無法滿足聚乳酸為介質的水份需求，而影響蘭株之水份及養份利用，進而造成其生長表現不佳。綜合比較葉片生長及開花品質的調查數據顯示，水苔及泥炭土混合介質植株有最大葉面積，比其他 4 種介質亦有顯著較佳開花表現；樹皮混合介質及聚乳酸等介質栽培之植株比水苔及泥炭土混合介質栽培之植株，葉片數減少約 1–2片，葉幅減少約 10–20 cm，總葉面積減少約 1/3，花梗長減少約 20 cm，花朵數減少約 2–3 朵，顯示葉片生長及外觀性狀與開花品質有一定程度相關。目前台灣蝴蝶蘭慣用水苔介質栽培，以水苔為標準之養液澆灌頻率及濃度，樹皮及其混合介質對蝴蝶蘭之栽培效益比水苔介質差，顯示此模式對樹皮及其混合介質之不適用性；

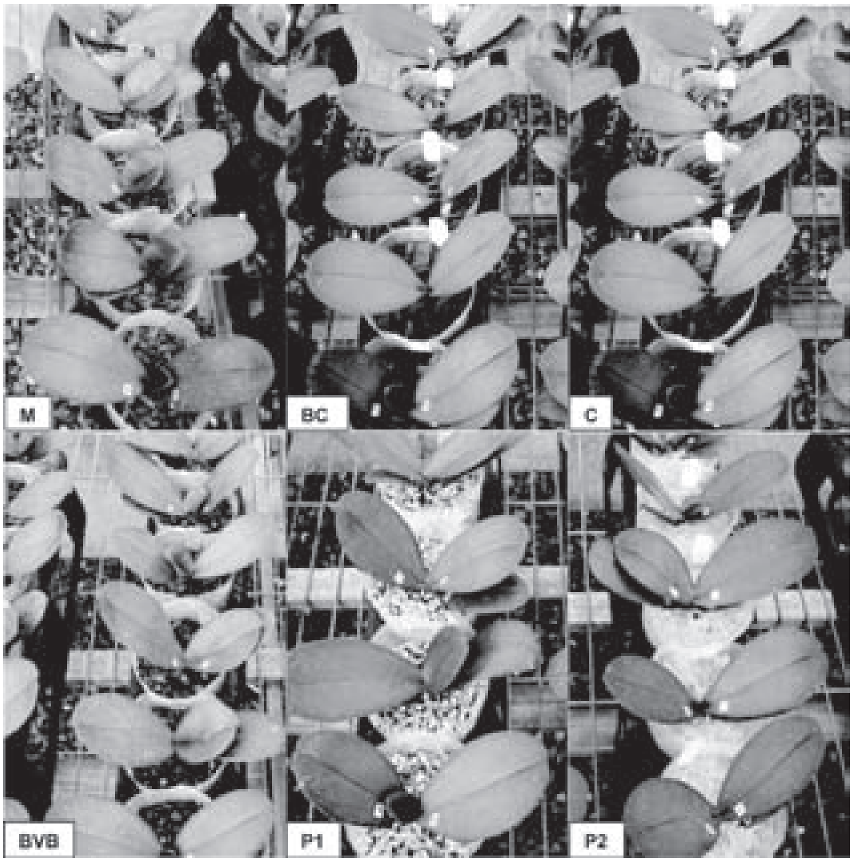


圖 2. 以生物可分解材料作為蝴蝶蘭栽培介質之生育情形。M：智利水苔；BC：樹皮 + 椰纖 (體積比 1：1)；C：椰纖；BVB：泥炭土 + 樹皮 + 椰纖 (體積比 3：1：1)；P1：聚乳酸-顆粒；P2：聚乳酸-碎片。

Fig. 2. The growth condition of phalaenopsis plants using biodegradable materials as growing media. M: sphagnum moss imported from Chile; BC: mixing fine bark into coconut fiber (1:1 by volumn); C: coconut fiber; BVB: mixing peat moss and fine bark into coconut fiber (3:1:1 by volumn); P1: granular polylactic acid (PLA); P2: PLA pieces.

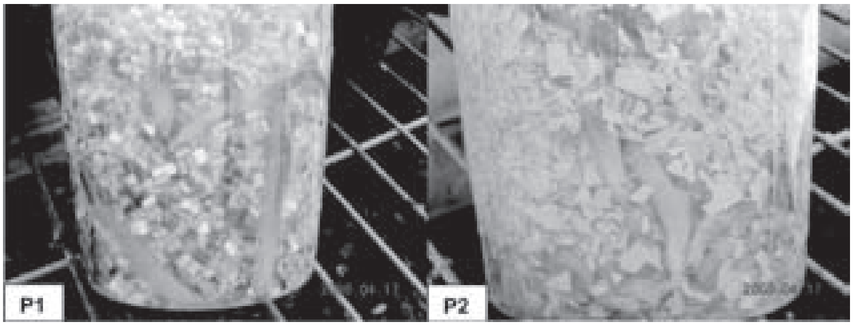


圖 3. 以聚乳酸作為蝴蝶蘭栽培介質之根系生育情形。P1：聚乳酸-顆粒；P2：聚乳酸-碎片。

Fig. 3. The root growth condition of phalaenopsis plants using polylactic acid materials as growing media. P1: granular polylactic acid (PLA); P2: PLA pieces.

但是針對介質性質調整肥培管理，部分樹皮混合介質處理之蝴蝶蘭生育表現和水苔介質商業栽培模式處理並無顯著差異 (Chang *et al*. 2007)。由本試驗生長數據顯示，生物可分解材料可以作為蝴蝶蘭栽培介質，但不適用於目前水苔管理模式，未來必須再持續進行試驗觀察，同時針對保水力、肥料緩衝能力及肥培管理模式等做進一步研究。另外，考量成本效益及調節栽培條件，建議可應用聚乳酸產業製程相關廢料，進一步針對蝴蝶蘭各栽培階段之肥培管理進行相關研究，以建立產業可接受之生產模式。

引用文獻 (Literature cited)

Chang, G. H., T. E. Dai, S. C. Huang, C. Y. Tsao, W. T. Tsai, F. N. Wang, A. H. Chang, and F. W. How. 2006. Application of artifical textile fiber as growing medium for Phalaenopsis cultivation. J. Taiwan Soc. Hortic. Sci. 52:71–80. (in Chinese with English abstract).

Chang, K. H., L. H. Tsai, R. Y. Wu, T. E. Dai, and T. F. Hsieh. 2007. Evaluation of bark as a growth medium for *Phalaenopsis* orchids. J. Taiwan Agric. Res. 56:237–252. (in Chinese with English abstract).

Chang, Y. C. A. 2007. The growth environment of phalaenopsis. p.1–6. *in*: Phalaenopsis Cultivation. (Shen, T. M. and S. T. Hsu, eds.) National Chiayi University. Chiayi. 132 pp. (in Chinese)

Chang, Z. M. 1987. Soil Science. National Institute for Compilation and Translation. Taipei. 640 pp.

Gordon, B. 1990. Culture of the *Phalaenopsis*. Laid-Back Pub. Rialto. 118 pp.

Kohara, H., T. Nakagawa, and J. Yamazaki. 2004. Effects of physio-chemical properties of various potting materials on *Phalaenopsis* hybrid cultivation. Jpn. J. Trop. Agr. 48:40–48.

Lin, G. M. 1983. Effect of Temperature, Mineral Nutrition and Growing Medium on Growth and Flowering of Phalaenopsis. Master Thesis, Department of Horticulture, National Taiwan Univ. Taipei. 57 pp. (in Chinese with English abstract).

Lin, G. M. and N. Lee. 1988. Leaf area estimation and the effect of temperature on the growth of phalaenopsis leaves. J. Chinese Soc. Hort. Sci. 34:73–80. (in Chinese with English abstract).

Shen, T. M. 2007. The cultural medium, water and nutrient management of phalaenopsis. p.19–27. *in*: Phalaenopsis Cultivation. (Shen, T. M. and S. T. Hsu, eds.) National Chiayi University. Chiayi. 132 pp. (in Chinese).

Taiwan Orchids Growers Association. 2010. The Industry Survey of Phalaenopsis in Taiwan. TOGA. Tainan. 63 pp. (in Chinese).

Tanaka, T., T. Matsuno, M. Masuda, and K. Gomi. 1988. The effects of concentration of nutrient solution and potting media on growth and chemical composition of a *Phalaenopsis* hybrid. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 57:78–84.

Tung, H. T. 1980. New Orchid Culture. IV. N. F. Pub. Taipei. 322 pp. (in Chinese).

Wang, Y. T. 1995. Medium and fertilization affect performance of potted *Dendrobium* and *Phalaenopsis*. Hortechnology 5:234–237.

Wang, Y. T. 1998. Impact of salinity and media on growth and flowering of a hybrid *Phalaenopsis* orchid. Hortscience 32:247–250.

Wang, Y. T. 2000. Medium, nutrition, and flower induction in potted blooming orchids. Hortechnology 10:433–434.

Wang, Y. T. and E. A. Konow. 2002. Fertilizer source and medium composition affect vegetative growth and mineral nutrition of a hybrid moth orchid. J. Am. Soc. Hort. Sci. 127:442–447.

Wang, Y. T. and L. L. Gregg. 1994. Medium and fertilizer affect the performance of *Phalaenopsis* orchids during two flowering cycles. Hortscience 29:269–271.

Wu, G. D., W. H. Chen, J. B. Chen, M. S. Chyou, and Y. Y. Cheng. 1994. Effect of applying nitrogen and organic fertilizer to bagasse medium on growth of Phalaenopsis. Rep. Taiwan Sugar Res. Inst. 146:1–8. (in Chinese with English abstract)

Evaluating Biodegradable Materials as Phalaenopsis Growing Media[1]

Ting-En Dai[2,4], Keng-Heng Chang[2], and Ting-Feng Hsieh[3]

Abstract

Dai, T. E., K. H. Chang, and T. F. Hsieh. 2012. Evaluating biodegradable materials as phalaenopsis growing media. J. Taiwan Agric. Res. 61:250–257.

Sphagnum moss is the main growing medium for cultivation of phalaenopsis in Taiwan. In recent years, over-exploitation of sphagnum moss, resulting in increased costs and unstable quality, affected the quality of orchids. Polylactic acid, one of the biodegradable polymers, has been developed for many years and was the most widely used material. The objective of this study was to investigate if the polylactic acid could substitute for sphagnum moss. The coconut fiber and peat moss were also compared. The pH and EC of the different media were measured and the effects on the growth of phalaenopsis were studied. The results showed that polylactic acid was a neutral medium; there were significant differences in the leaf growth between polyactic acid and sphagnum moss treatments. All the plants produced one spike successfully in natural flowering season with one spike, no significant difference among treatments. Spike lengths of polylactic acid granules (P1) and pieces (P2) treatments were 89.7 and 91.7 cm, respectively, significantly shorter than that of the sphagnum moss treatment (117.2 cm). The average number of flowers per spike of P1 and P2 were 13.4 and 12.6, respectively, 2–4 flowers less then that of the sphagnum moss treatment.

Key words: Sphagnum moss, Bark, Coconut fiber, Peat moss, Polyacetic acid.

---

1. Contribution No. 2680 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: May 9, 2012.
2. Respectively, Associated Researcher and Chairman, Assiatant Reseacher, Department of Environmental Research, Floriculture Research Center, TARI, Yunlin, Taiwan, ROC.
3. Reasearcher and Director, Floriculture Research Center, TARI, Yunlin, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: tedai@tari.gov.tw; Fax: (05)5820834.

「台灣農業研究」稿約

一、 本刊爲行政院農業委員會農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究稿件：

論　　說：由本所邀請專家撰寫。

研究報告：關於農業科學未曾發表之研究報告，按題目、作者、摘要、前言、材料與方法、結果、討論、結論 (一般略去)、誌謝 (可略去)、引用文獻等依序撰寫，圖與表附於其後，全文以不超過 10印刷頁爲原則。

研究簡報：關於農業科學未曾發表之簡短原始研究報告，不須分章節撰寫，但須附中英文摘要，全文以不超過 4印刷頁爲原則。

二、 稿件應以中文或英文撰寫。來稿請送原稿及電子檔案各一份 (內各附照片原圖，繪製圖版可附原圖與影印圖片二份)。文稿以 A4大小之白色紙張 (長 29.6公分，寬 21公分) 兩倍行高 (double space) 打字， 12號字體，左邊對齊，版面應上下預留 3公分，左右 2公分之空間，並自第二頁起在右下角以阿拉伯數字註明頁數。撰寫時，中文以細明體、英文以 Times New Roman字體打字；英文字距一格，句距二格。審查接受之稿件，隨文請附紙本文稿一份與電子檔案，以利送審及電腦排版等作業。

三、 稿件格式：

題　　目：宜簡短，能充分反應文旨，並附簡題 (Running title) (中文 12字；英文 6字以內爲原則)。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫。題目附小註，說明研究報告編號。

作　　者：作者姓名置中，中文名字間空一格；英文姓名則名在前姓氏在後，作者二人或二人以上時，以 “，” 相隔，最後一人前加 “and” 字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen, and Chyr-Guan Chen。每一作者須附小註，以說明所屬機關單位，通訊作者須附電子郵件信箱與傳真機號碼。題目與作者同置第一頁。

摘　　要：不分段落、宜簡潔明確。摘要之前應加作者、年代、題目、期刊、及卷期，摘要之後應附關鍵詞 (Key words)，關鍵詞不超過 5個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫。摘要以不超過 500字爲原則。以中 (英) 文發表者須附英 (中) 文摘要，置於本文之後，且內容須與中 (英) 文摘要相符，並附稿件編號、作者、通訊作者之小註。

本　　文：依序爲前言 (Introduction)、材料與方法 (Materials and Methods)、結果 (Results)、討論 (Discussion)、結論 (Conclusion)、誌謝 (Acknowledgements)、引用文獻 (Literature Cited)。除學名、專有名詞、化學式、數學公式、數字、度量衡單位及縮寫外，文句中不得中外文並用，需使用英 (外) 文以助明瞭時，須將英 (外) 文括號置於中文之後。材料與方法、結果兩部份如有必要須分章節，每一章節內並可再分小章節，以助明瞭文稿內容。章節題目 (heading) 單行置於該章節之前，小章節題目 (subheading) 直接置於小章節之首。

表　　格：

1、 每一表格應分別繕製，須以 WORDR中 “表格” 工具製作，上方須有標題，並按文中出現順序加上**表 1. (Table 1.)**，**表 2. (Table 2.)** 等冠號。

2、 中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。

3、 表格應加分析、簡化與歸納後始可列表。每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

4、 表中內容如需說明，均須附加小註，以 z, y, x,…等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依次敘述。表格僅列橫線。

5、性質類同之圖與表，務請精簡與合併。

圖　　片：

1、手繪圖版以黑色墨水分別繪圖紙或描繪紙 (白色透明紙) 上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。

2、圖中所有標示應以英文書寫 (Arial字型) 或註明於標題之後。

3、照片以光面紙爲原則，清晰度以縮小 50%可判讀爲宜。多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明。顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面 (25 cm × 18 cm) 爲宜。

4、圖版及照片下方應有標題，並按文中出現的順序加上**圖 1. (Fig. 1.)**、**圖 2. (Fig. 2.)** 等冠號，在文中須標示清楚，以便對照。中文稿標題應中英文併列，力求明確。

5、除併圖外，每一圖片應單頁製作。

6、照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。

誌　　謝：不分段落，包括人物、經費來源等。誌謝可略去。

引用文獻：

1、列舉確實曾引用之文獻。文獻以登載於學術性期刊、書籍、研討會之文章及學位論文爲限。文中涉及引用文獻時，根據該文獻的作者與年代加以括號：如 (Sung 1991)、(Lo 1991, 1992)、(Chen & Ho 1983)、(Sung 1991; Hsu *et al*. 1992)，以年代先後爲序置於引用文處。

2、文獻須以英文撰寫，以姓名字母爲序。作者相同時以年代先後爲序。

3、文獻之書寫方法以期刊爲例，依序爲作者、年代、題目、期刊、卷期、頁數。

4、期刊名須依該期刊公告之縮寫撰寫；如無者，請參照 Biosciences Information Service (1992) 出版之 "Serial Sources for the BIOSIS Previews Database" 或依該學術領域之慣例撰寫。

5、文獻書寫範例如下：

(1) 原中文報告引用文獻出自學術性期刊 Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo, and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse. J. Agric. China 157:34–43. (in Chinese with English abstract)

(2) 原中文報告引用文獻出自著作性書籍 Sung, J. M. 1991. Nitrogen Metabolism of Rice. Chinese Agronomy Press. Taipei. 100 pp. (in Chinese)

(3) 原中文報告引用文獻出自編輯性書籍 Yang, C. M. and C. Y. Lin. 2003. Studies on rice precision farming system. p.1–12. *in*: Rice Precision Farming System. (Yang, C. M. and C. Y. Lin, eds.) Agric. Res. Inst. Pub. No. 105. Taichung. 252 pp. (in Chinese with English abstract)

(4) 原中文報告引用文獻出自研討會專刊 Chang C. A. 2001. Application and extension of virus-free seedling for the control of virus diseases of passionfruit in Taiwan. p.31–38. *in* the Proceeding of Symposium on Application of Healthy Plant for Control of Plant Diseases. Taiwan Phytopathol. Soc. Pub. Taichung. (in Chinese with English abstract)

四、單位、縮寫格式、括號及統計分析

1、凡文中出現之數值，除非另有特別之意義，一律用阿拉伯數字書寫。單位如以英文表示，則用國際公認標準符號 (SI units) 代替全文，各常用之縮寫單位參照說明如下：

(1) 長度：公里 (km)、公尺 (m)、公分 (=厘米) (cm)、公釐 (=毫米) (mm)、微米 (μm)。

(2) 重量 (W)：公斤 (kg)、公克 (g)、毫克 (mg)、μg。

(3) 容積 (V)：公升 (L)、公撮 (=毫升) (mL)、μL。

(4) 面積：公頃 (ha)、平方公尺 (m^2)、平方公分 (cm^2)。

(5) 溫度：攝氏 (℃)、絕對溫度 (K，但須加以說明)。

(6) 時間：日 (天) (d)、時 (h)、分 (min)、秒 (s)。

(7) 濃度：莫耳 (M)、千分之一莫耳 (mM)、當量 (N)、千分之一當量 (mN)。

(8) 重力加速度：*g*。

2、其他之縮寫：平均 (av)、大約 (ca)、直徑 (diam.)。

3、括號：括號字型全以半形 ( )，括號前後各空一格。

4、統計分析：達顯著性水準以 *、**或處理間顯著差異區分，以 a、b、c、…表示者均應加註顯著機率值 P (例如 $P < 0.01$)；各統計量請採慣用符號，例如相關係數 (r) 、決定係數 (R2)、變異係數 (cv)、標準差 (sd)、平均值標準差 (se) 等。

5、其他問題：

(1) 單位與其前面數值之間應空一格，如 220 g。

(2) 數學運算符號與其前後數值之間應各空一格，如 P = 0.014、23.6 ± 3.0、15 × 2。

(3) 在±、×或 to的前後兩數值若是含有單位，請用 23.6% ± 3.0%、15 cm × 2 cm、20°C to 30°C (即勿省略前面數值之單位)。

(4) 數值起迄符號用 – (全型破折號)，勿用 ~或-，且與前後兩數值之間無須留空格，如 3–6、2005–2007年、7月 20–25日。

(5) 年代一律用西元。

五、 其他注意事項

1. 生物學名以斜體字表示，屬名第一字母大寫。學名於摘要、本文、每一圖表中第一次出現時，須寫全名，如 *Citrus sinensis*；第二次出現時，屬名保留第一字母後加句點 “.” ，種名全寫，如 *C. sinensis*。生物學名於本文中首次出現時應加註命名者。

2. 中文稿件中，外文名詞應儘量翻譯成中文，若是不常見名詞應於文中第一次出現時以括號標出原文。摘要及本文中，英文縮寫於第一次出現時，須附全名。

六、 投稿方式

1. 稿件內容務須依照上列規定格式書寫，本期刊編輯委員保有修改與退稿之權利。文稿經本期刊接受後，作者得送含文稿內容之磁片或電子檔案 (IBM相容電腦之文書管理檔，如 Word檔或其他) ，並由作者負責前二校。除筆誤與錯字外，作者在校稿時，不得擅自更改內容與數據。

2. 審稿程序請上網參閱本期刊「論文審查制度流程」，網址： http://www.tari.gov.tw/。

七、 文稿必須是作者本身的著作，且作者為唯一的著作權擁有者，否則因此引發之法律責任將由作者負責。投稿應為未經刊登之文章，亦不得一稿多投。投稿需經所有作者同意。稿件經本期刊接受後，投稿人需繳交「著作權讓與書」，如未提供者，本期刊不予刊登。著作財產權屬農試所所有，非經本所書面同意，不得轉載或移轉他處發表。本期刊有權對文稿進行必要之詞句修改。

八、 其他未盡事宜本期刊得隨時修正或補充。

台 灣 農 業 研 究

（原中華農業研究）

第六十一卷　第三期

中華民國一〇一年九月出版

發 行 人：陳 駿 季

總 編 輯：方 尚 仁

主　　編：陳 盈 佑　吳 宜 晏

編審委員：

生 技 組：吳 明 哲（主審）

作 物 組：歐 錫 坤（主審）
黃 肇 家　楊 純 明　施 昭 彰

農 化 組：郭 鴻 裕（主審）
簡 宣 裕　劉 滄 棽

植 病 組：安 寶 貞（主審）
鄧 汀 欽

應 動 組：高 靜 華（主審）
陳 健 忠

農 工 組：林 木 連（主審）
黃 禮 棟

種 原 組：溫 英 杰（主審）

農 經 組：張 采 蘋（主審）

花卉中組：謝 廷 芳（主審）

嘉義分組：楊 宏 仁（主審）

鳳山分組：陳 甘 樹（主審）

另聘請各大學院校及研究機關相關學者專家擔任審查委員

Vol. 61, No. 3 September, 2012

JOURNAL
OF
TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH
(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

PUBLISHER: Chen, Junne-Jin

EDITOR IN CHIEF: Fang, Shan-Jen

EDITORS:

Chen, Ying-You Wu, Yi-Yan

EDITORIAL BOARD:

Ann, Pao-Jen (Plant Pathology)

Chang, Tsai-Ping (Agriculture Economics)

Chen, Kan-Shu (Tropical Horticulture)

Guo, Horng-Yuh (Agriculture Chemistry)

Hsieh, Ting-Feng (Floriculture)

Kao, Ching-Hua (Applied Zoology)

Lin, Mu-Lien (Agriculture Engineering)

Ou, Shyi-Kuan (Crop Science)

Wen, Ien-Chie (Crop Genetic Resources)

Wu, Min-Tze (Biotechnology)

Yang, Hong-Ren (Subtropical Agirculture)

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

Chen, Chien-Chung Chien, Shiuan-Yuh Deng, Ting-Chin

Hung, Chao-Chia Huang, Li-Duhng Liu, Tsang-Sen

Shih, Jau-Chang Yang, Chwen-Ming

Reviewers of the related fields are also invited from universities and other research organizations.

台灣農業研究第六十一卷第三期

出 版 者：行政院農業委員會農業試驗所

發 行 人：陳駿季

總 編 輯：方尚仁

地　　址：41362 台中市霧峰區萬豐里中正路189號

網　　址：http://www.tari.gov.tw

電　　話：(04)23302301

出版日期：中華民國一〇一年九月三十日

定　　價：新臺幣一七五元

展售門市：

1. 國家圖書 / 104 台北市松江路209號1樓　(02)25180207
   國家網路書店 http://www.govbooks.com.tw
2. 五南文化廣場 / 400 台中市中山路6號　(04)22260330

編　　印：Airiti Press Inc.

地　　址：23452 新北市永和區成功路一段80號18樓

電　　話：(02)29266006

E-mail：press@airiti.com

ISSN 0022-4847
GPN 2009500560

September, 2012

Journal of Taiwan Agricultural Research

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

Vol. 61, No. 3

Research Reports

Effect of Host and Instar Preference on the Development and Oviposition of the Endoparasitoid *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae)
Ching-Chin Chien and Shu-Chen Chang.......... 165

Effect of Host and Temperature on Population Increase and Parasitism of *Opius caricivorae* (Hymenoptera: Braconidae)
Ching-Chin Chien and Shu-Chen Chang.......... 172

Relation between Genetic Distance and Yield in Different Varieties of Super Sweet Corn
Shao-Kuo Liu and Guang-Jauh Shieh.......... 186

Berberine Production in Cell Suspension Cultures of *Phellodendron amurense* Rupr. var. *wilsonii* (Hayata & Kanehira)
Chi-Han Liu, Jui-Sheng Lai, Horng-Mo Lee, and Min-Tze Wu.......... 196

Bidens mottle virus Infecting Lettuce in Taiwan: Identification and Sequence Analysis of Full-Length Viral Genome
Chin-Chih Chen, Ting-Chin Deng, Chun-Huei Huang, Bi-Yun Lin, and Jye-Yann Liao... 209

Effect of Climatic Conditions during Heading to Harvest Stage on Quality of Rice Cultivar TNG 71
Chia-Hsun Ho, Chwen-Ming Yang, Chiao-Ling Hsiao, and Ming-Hsing Lai.......... 222

Using Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Other Microorganisms for Control of *Fusarium* Wilt of Banana
Su-Chen Lin, Chao-Yi Wang, and Ching-Chung Su.......... 241

Research Note

Evaluating Biodegradable Materials as Phalaenopsis Growing Media
Ting-En Dai, Keng-Heng Chang, and Ting-Feng Hsieh.......... 250

Published by Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture Taichung, Taiwan, Republic of China

ISSN 0022-4847

9 770022 484003

行政院新聞局出版事業登記證局版臺省誌字第二九八號　中華郵政中臺字第〇三〇九登記為雜誌交寄

GPN 2009500560

定價：新台幣一七五元